

**Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der
Ludwig-Maximilians-Universität München**

Direktor: Herr Prof. Dr. Peter Falkai

**Einfluss genetischer Polymorphismen des CNTNAP2 Gens auf
Schizophrenie und kognitive Phänotypen**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Karsten Wolfgang Kühborth

aus
Worms

2017

**Mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. Dan Rujescu

Mitberichterstatter / -in: Priv. Doz. Dr. Tim M. Strom

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 09.03.2017

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	3
Zusammenfassung	5
1 Einleitung.....	6
1.1 Schizophrenie.....	6
1.1.1 Definition	6
1.1.2 Epidemiologie	6
1.1.3 Klassifikation und diagnostische Kriterien	6
1.1.4 Verlauf	7
1.1.5 Ätiologie.....	7
1.1.6 Neurochemische Vorgänge	10
1.1.7 Kognitive und mnestiche Defizite bei Schizophrenie	11
1.2 Konzept der Endophänotypen	12
1.3 Gedächtnis.....	13
1.3.1 Lern- und Gedächtnisprozesse	13
1.3.2 Zeitliche Klassifikation der Gedächtnissysteme	14
1.3.3 Neuronale / Anatomische Grundlagen des Gedächtnisses.....	15
1.3.4 Neuropsychologische Grundlagen des Gedächtnisses.....	17
1.3.5 Genetik und Gedächtnis	18
1.4 CNTNAP2 Gen	19
1.4.1 Genstruktur und Rezeptoren	19
1.4.2 Genexpression und Regulation	19
1.4.3 Funktion des CNTNAP2-Proteins (Caspr2)	20
1.4.4 CNTNAP2 und psychische Erkrankungen	21
1.5 Fragestellung	23
2 Material und Methoden.....	24
2.1 Vorabbedingungen	24
2.1.1 Studiendesign	24
2.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien	24
2.2 Rekrutierung der Teilnehmer	24
2.2.1 Zusammensetzung des Studienkollektives.....	24
2.2.2 Kontrollprobanden	25
2.2.3 Patientenkollektiv.....	25
2.3 Klinisches Interview	26
2.3.1 Kontrollgruppe	26
2.3.2 Schizophrene Patienten	27
2.4 Die Wechsler Memory Scale Revised (WMS-R)	28
2.4.1 Die Untertests der WMS-R	29

2.4.2	Auswertung der WMS-R	32
2.4.3	Statistische Eigenschaften der WMS-R	33
2.5	Laborverfahren	34
2.5.1	DNA Extraktion	34
2.5.2	DNA Konzentrationsmessung.....	35
2.5.3	Genotypisierung	37
2.6	Statistische Auswertung	42
3	Ergebnisse	44
3.1	Stichprobenbeschreibung	44
3.2	Beschreibung der Polymorphismen	46
3.3	Fall-Kontroll-Assoziationsstudie CNTNAP2 SNPs und Schizophrenie ...	47
3.4	Endophänotypenstudie und Assoziation der SNPs mit der WMS-R	50
3.4.1	Assoziation mit den Leistungsaspekten der WMS-R	51
3.4.2	Assoziation mit den Subtests der WMS-R.....	52
3.4.3	Häufigkeit der Assoziationen eines Polymorphismus mit WMS-R Subtests und Leistungsskalen.....	53
3.5	Lokalisation signifikanter SNPs für Schizophrenie und Gedächtnisleistung auf dem CNTNAP2 Gen	56
3.6	Haplotypen	58
3.6.1	Haplotypbeschreibung	58
3.6.2	Haplotypanalyse.....	59
4	Diskussion	61
4.1	Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse.....	61
4.2	Diskussion der Methoden.....	61
4.3	Diskussion der Ergebnisse	64
4.4	Ausblick	68
	Abkürzungen und Fachbegriffe	70
	Eidesstattliche Versicherung	72
	Danksagung.....	73
	Literaturverzeichnis	74

Zusammenfassung

Die Ätiopathogenese der Schizophrenie ist bis heute nicht vollständig erforscht. In der Literatur wird ein polygener Erbgang, eine multifaktorielle Krankheitsgenese und eine Assoziation mit dem Endophänotyp Gedächtnisleistung diskutiert.

CNTNAP2 ist auf Chromosom 7 lokalisiert und zählt zu den größten Genen des menschlichen Genoms. Sein Genprodukt Caspr2 ist unter anderem an der Interaktion zwischen Neuron und Glia am myelinisierten Axon sowie an der neuronalen Adhäsion und Signaltransduktion beteiligt. Ihm wird eine entscheidende Rolle in frühen Phasen der Hirnentwicklung ebenso wie eine Beteiligung an der neuronalen Zellmigration respektive dem Ausbilden neuronaler Netzwerke sowie der Koordination synaptischer Aktivität zugesprochen.

CNTNAP2 wurde in der Vergangenheit bereits mehrfach mit dem Auftreten psychiatrischen Erkrankungen assoziiert; ein dezidierter Zusammenhang mit Schizophrenie konnte bislang allerdings erst für einen Einzelnukleotidpolymorphismus nachgewiesen werden.

In der vorliegenden Arbeit wurden 29 Single Nukleotid Polymorphismen (SNPs) des CNTNAP2 Gens in einem Studienkollektiv bestehend aus 349 schizophrenen Patienten und 503 gesunden Kontrollprobanden auf eine Assoziation mit Schizophrenie ebenso wie ihren Einfluss auf die Gedächtnisleistung (quantifiziert anhand des Abschneidens in der Wechsler Memory Scale Revised) hin untersucht.

Für die betrachteten SNPs konnten sowohl in einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie als auch Endophänotypenstudie erstmals signifikante Assoziationen zu Schizophrenie und Gedächtnisleistung beschrieben werden. Als besonders exponiert für den Einfluss der Polymorphismen präsentierte sich eine Region von Exon 13 bis 15 des Gens, einem potentiellen Bindungsort des Transkriptionsfaktors FOXP2.

Die vorliegende Arbeit legt die Annahme nahe, dass CNTNAP2 ein Suszeptibilitätsgen sowohl für Schizophrenie als auch den Endophänotyp Gedächtnisleistung ist.

1 Einleitung

1.1 Schizophrenie

1.1.1 Definition

Die Schizophrenie wird der Gruppe der endogenen Psychosen zugeordnet. Sie stellt eine der schwerwiegendsten psychiatrischen Diagnosen dar. Die in Erscheinungsbild und Verlauf heterogene Erkrankung ist durch Wahn, Halluzinationen, formale Denkstörungen, Ich-Störungen, Affektstörungen und psychomotorische Störungen charakterisiert. Eine multifaktorielle Genese wird angenommen, wobei der genetischen Disposition eine zentrale Bedeutung zugeschrieben wird (van Os & Kapur 2009). Verwandte Störungen wie schizoaffective, wahnhaft oder kurzzeitig psychotische Erkrankungen z.B. im Rahmen einer affektiven Störung (Goodwin & Jamison 1992) werden anhand von Symptomart und -dauer von der Schizophrenie abgegrenzt (McKenna 1997).

1.1.2 Epidemiologie

Die Schizophrenie weist eine Prävalenz von 0,5-1% und eine jährliche Inzidenzrate von 0,05% auf. Das Risiko der Allgemeinbevölkerung im Laufe des Lebens zu erkranken beträgt 0,6-1%. Die Prävalenzzahlen sind in verschiedenen Ländern mit unterschiedlichem soziokulturellen Hintergrund vergleichbar (van Os & Kapur 2009). In etwa 80% der Fälle kommt es zum Krankheitsausbruch vor dem 30. Lebensjahr, in annähernd 40% der Fälle sogar vor dem 20. Lebensjahr (An der Heiden & Häfner 2000). Frauen erkranken durchschnittlich drei bis vier Jahre später als Männer: Das mittlere Alter beim Auftreten des ersten Krankheitszeichens beträgt bei Männern ca. 22 Jahre, bei Frauen ca. 25 Jahre. Das Erkrankungsrisiko für Männer erreicht sein Maximum zwischen dem 15 und 25 Lebensjahr und fällt später kontinuierlich auf ein sehr niedriges Niveau. Für Frauen ergibt sich ein weniger prägnanter Anstieg mit einem niedrigeren und breiteren Gipfel zwischen dem 15. und 30. Lebensjahr sowie einem weiteren Krankheitsmaximum zwischen 45 und 50 Jahren (Häfner 2003, Barajas et al. 2015). Schizophrenie tritt gehäuft in Großstädten und zu 45% in unteren sozialen Schichten auf – eine Erklärung hierfür liefert die Drifthythese, bei der Schizophreniepatienten sozial stagnieren bzw. einen deutlichen sozialen Abstieg durchlaufen (An der Heiden & Häfner 2000).

1.1.3 Klassifikation und diagnostische Kriterien

Die Einteilung der Schizophrenie nach klinischen Aspekten in einen paranoiden, hebephrenen und katatonen Subtyp geht auf Emil Kraepelin zurück. Er beschrieb gemeinsam mit Bleuler am Ende des zwanzigsten Jahrhunderts das Vollbild der Erkrankung mit gravierenden Persönlichkeitsveränderungen als „Dementia praecox“ (Fusar-Poli & Politi

2008). Weitere Klassifikationsversuche sind die Unterscheidung in Grundsymptome (Assoziationsstörungen, Affektstörungen, Autismus und Ambivalenz) und akzessorische Symptome (Halluzinationen, Wahn und katatone Symptome) nach Bleuler (Ebert 2005) sowie die Kategorisierung der Symptome nach diagnostischer Wertigkeit nach Kurt Schneider in Symptome ersten (akustische Halluzinationen in Form von kommentierenden und dialogisierenden Stimmen, leiblichen Beeinflussungserlebnissen, Gedankenlautwerdens, Ich-Störungen in Form von Gedankeneingebung, -entzug oder -ausbreitung sowie Wahnwahrnehmung) und zweiten Ranges (Wahneinfall, Halluzinationen und Zonästhesien) (Schneider 1967).

Darüber hinaus ist eine Einteilung der Schizophrenie in positive Symptome mit einer Vergrößerung des Verhaltensrepertoires eines Patienten (Halluzinationen, Wahnphänomene, positive formale Denkstörungen wie Inkohärenz oder Umständlichkeit und bizarres oder desorganisiertes Verhalten) und negative Symptome, die das Verhaltensrepertoire verkleinern (Analogien, Affektverarmung, Apathie, Anhedonie und Aufmerksamkeitsstörungen) möglich (Andreasen & Olsen 1982, Marneros & Andreasen 1992).

Heute existieren zwei Klassifikationssysteme, die formale Kriterien zur Diagnostik der Schizophrenie aufstellen. Beide Systeme, sowohl die *International Classification of Diseases* (WHO 1992) als auch das von der amerikanischen Psychiatrievereinigung herausgegebene *Diagnostic and Statistical Manual* (DSM-V) (APA 2013), fordern neben der Existenz charakteristischer Krankheitszeichen, die in unterschiedlicher Gewichtung in die Beurteilung eingehen, die Erfüllung bestimmter Zeitkriterien.

1.1.4 Verlauf

Die Schizophrenie zeigt als Erkrankung mit einem breit gefächerten Symptomspektrum keinen einheitlichen Verlauf. Erste präepisodische Alterationen im Sinne eines Prodromalsyndroms werden häufig bereits mehrere Monate bis Jahre vor Ausbruch des Vollbildes beobachtet. Die erste Episode manifestiert sich in annähernd der Hälfte der Fälle mit einer paranoid-halluzinatorischen Symptomatik. In der Regel kommt es zu rezidivierenden Krankheitsepisoden mit variierender Ausprägung residualer Beschwerden (Marneros et al. 1991).

Eine Vorhersage des Krankheitsverlaufs ist im Einzelfall kaum zuverlässig möglich. Eine dauerhafte Vollremission mit Erreichen eines prämorbidem Funktionsniveaus ist jedoch selten (Lauronen et al. 2005).

1.1.5 Ätiologie

Die Ätiologie der Schizophrenie ist nicht abschließend geklärt. Es wird von einer multifaktoriellen Genese mit einem Fokus auf genetisch bedingter Vulnerabilität im Sinne einer polygenen Erkrankung mit Ausprägung eines heterogenen, in seinem Schweregrad

variierenden Phänotyps ausgegangen (van Os & Kapur 2009). Hierbei wird vermutet, dass die Auswirkung einzelner Gene auf das Erkrankungsrisiko gering ist, diese aber zusammen mit nichtfamiliären Faktoren auf die Krankheitsmanifestation einwirken (Maier et al. 1999). Nachgewiesen wurde der genetische Einfluss auf die Schizophrenie mittels Familien-, Zwillings- und Adoptions- ebenso wie Kopplungs- und Assoziationsstudien (Owen 2000).

Familienstudien belegen, dass das Erkrankungsrisiko mit abnehmendem Verwandtschaftsgrad zum Patienten sinkt: Im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung besitzen Erstgradangehörige ein um 5-15fach erhöhtes Erkrankungsrisiko, bei zwei betroffenen Elternteile steigt das Erkrankungsrisiko der Kinder auf 40% (Kendler & Gardner 1997, Herson 2011); für Verwandte zweiten Grades wird das relative Risiko mit 6%, bei Verwandten dritten Grades mit nur mehr 2% angegeben (Tsuang et al. 2001).

Zwillingsstudien vergleichen die Konkordanzraten von ein- und zweieiigen Zwillingspaaren. Unter der Voraussetzung, dass beide Zwillingsstypen gemeinsamen Umwelteinflüssen unterliegen, weist eine höhere Konkordanz für eine Erkrankung bei eineiigen Zwillingen auf eine genetische Ätiologie hin. Die Konkordanzraten bei Schizophrenie für eineiige Zwillinge werden mit 41-64%, für zweieiige Zwillinge mit 0-28% angegeben – aus diesen Daten kann die Heritabilität (als Anteil der durch genetische Faktoren erklär-baren ätiologischen Varianz) auf etwa 85% geschätzt werden (Cardno & Gottesman 2000).

Konkordanzraten eineiiger Zwillinge von im Mittel 50% sowie die geschätzte Heritabilität von unter 100% legen das Vorhandensein nicht-genetischer Einflussfaktoren auf das Erkrankungsrisiko nahe (Kirov et al. 2005). Im Rahmen des Vulnerabilitäts-Stress Modells, welches neben der genetischen Disposition den Einfluss nicht-genetischer Faktoren auf die Krankheitsmanifestation diskutiert (Nuechterlein et al. 1994), werden zu den nicht-genetischen Belastungsfaktoren prä- und perinatale Schädigungen (Brown & Susser 1996), kritische Lebensereignisse wie Migration oder Minderheitenstatus (Boydell et al. 2001, Veling et al. 2008), ein niedriger sozioökonomischer Status (Brown 2011), Drogenkonsum ebenso wie *high-expressed-emotions* Familien, die durch Überprotektion und kritische Emotionalität gekennzeichnet sind, gezählt (King 2000).

Adoptionsstudien stellen hierbei eine Möglichkeit zur Gewichtung von Anlage- und Umwelteinflüssen dar. Die Tatsache, dass von gesunden Familien adoptierte Kinder schizophrener Eltern ein erhöhtes Erkrankungsrisiko aufweisen; dies bei Kinder gesunder Eltern, die in eine Adoptivfamilie mit schizophrenem Elternteil vermittelt werden, jedoch nicht der Fall ist wird als Hinweis darauf gewertet, dass familiäre Häufungen von Schizophrenie überwiegend auf genetische Faktoren zurückzuführen sind (Kendler et al. 1994, Kety et al. 1994).

Kopplungsstudien untersuchen innerhalb von Familien mit mehreren betroffenen Mitgliedern, ob ein genetischer Marker und der Krankheitsphänotyp überzufällig häufig gemeinsam vererbt werden. Eine dem Phänotyp zugrunde liegende DNA-Sequenz und ein genetischer Marker werden mit umso geringerer Wahrscheinlichkeit während der gametischen Zellteilung voneinander getrennt, je näher sie auf einem Chromosom zusammenliegen. Darüber lässt sich über die bekannte Lage des Markers auf die chromosomale Region schließen, in der mit hoher Wahrscheinlichkeit verantwortliche Krankheitsgene liegen (Ziegler 2002). In einer 2003 veröffentlichten Meta-Analyse erwiesen sich die Ergebnisse von 20 untersuchten Kopplungsstudien konsistenter als erwartet. Als bedeutende Kandidatenregionen für schizophrene Erkrankungen wurden die chromosomalen Loci 1p13.3-q23.3, 2q22.1-q23.3, 3p25.3-p22.1, 5q23.2-q34, 6pter-p22.3, 6p22.3-p21.1, 8p22-p21.1, 11q22.3-q24.1, 14pter-q13.1, 20p12.3-p11 und 22pter-q12.3 aufgeführt (Lewis et al. 2003).

In einer Vielzahl von Studien ist es gelungen, chromosomale Regionen einzugrenzen, in denen Loci relevanter Krankheitsgene vermutet werden. Es gibt allerdings keine Region, die konsistent in allen Studien nachgewiesen werden konnte. Dem scheint die große Zahl beteiligter Gene mit jeweils geringer phänotypischer Penetranz und die Variabilität der einzelnen Studien in Bezug auf Phänotypdefinition, Stichprobengröße und Art der verwendeten Marker zugrunde zu liegen (Nöthen et al. 2004). Insgesamt gelingt es mittels Kopplungsstudien nicht, die eigentlichen Suszeptibilitätsgene zu detektieren (Tandon et al. 2008).

Assoziationsstudien stellen im Gegensatz zu Kopplungsanalysen ein sensitives Verfahren zum Nachweis von Risikogenen mit geringem Beitrag zur Krankheitsentstehung dar. Es wird verglichen, ob eine bestimmte DNA-Sequenzvariante häufiger in einem Patientenkollektiv als in der Kontrollgruppe zu finden ist. Die Ursache einer Assoziation kann entweder auf der direkten Wirkung des Polymorphismus oder dessen unmittelbarer räumlicher Nähe zu einem direkt am Krankheitsgeschehen beteiligten Gen beruhen, wobei in letzterem Fall die Assoziation über ein Kopplungsungleichgewicht hergestellt wird (Propping et al. 1994, Giegling et al. 2008).

Im Zuge technischer Entwicklungen stehen in jüngster Zeit Genchips zur Verfügung, die es in ökonomischer Weise ermöglichen, eine hohe Zahl von SNPs in einem Fall-Kontroll-Studiendesign auf Assoziation zum Phänotyp zu untersuchen. Mit diesem Ansatz können mehr als 80% der im HapMap-Project des internationalen Haplotype Map Konsortiums kartierten SNPs in einer Stichprobe evaluiert werden, was ein hypothesenfreies Vorgehen darstellt und eine genomweite Assoziationsuntersuchung ermöglicht (Cichon et al. 2009).

In den bislang veröffentlichten genomweiten Assoziationsuntersuchungen zur Schizophrenie werden eine Vielzahl an Lokalisationen mit genomweiter Signifikanz ausgewiesen, u.a. DOCK4 und CEACAM21 (Alkelai et al. 2011), MSRA (Ma et al. 2011), PLAA,

ACSM1 und ANK3 (Athanasias et al. 2010), MHC, TCF4, FXR1 und PTB2 (Purcell et al. 2009), CSF2RA (Lencz et al. 2007) und YWHAZP5 (Ren et al. 2015). Andere Studien stellten in ihren Stichproben keine signifikante genomweite Assoziation eines SNPs mit der Erkrankung fest (Sullivan et al. 2008, Need et al. 2009, Schanze et al. 2010, Ikeda et al. 2011, Yamada et al. 2011).

In einer Metaanalyse bislang publizierter genomweiten Assoziationsstudien zur Schizophrenie mit über 50000 Datensätzen konnte das Psychiatric Genomic Consortium (PGC) 2011 sieben signifikante Genloci (1p21.3, 2q32.3, 8p23.2, 8q21.3, 10q24.32-q24.33, 6p21.32-p22.1 sowie 18q21.2) ebenso wie einen möglichen Zusammenhang einer MIR137 bedingten neuronalen Dysfunktion als mit der Pathogenese der Schizophrenie assoziiert identifizieren (GWAS Consortium 2011). 2014 gelang dem Psychiatric Genomic Consortium in einer weiteren genomweiten Assoziationsstudie der Nachweis von 108 spezifischen, davon 83 bislang nicht beschriebenen, Suszeptibilitätsloci der Schizophrenie. Enthaltene Gene der neuronalen Dopamin- (z.B. DRD2) und Glutamat-hypothese (z.B. GRM3, GRIN2A, SRR, GRIA1) stützen bisherige pathophysiologische Überlegungen und sind kongruent mit bekannten pharmakologischen Ansatzpunkten der Schizophrenietherapie (Schizophrenic Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium 2014).

1.1.6 Neurochemische Vorgänge

Als pathophysiologisches Korrelat zur Krankheitssymptomatik werden Diskrepanzen im Neurotransmittersystem diskutiert. Neben dem Dopaminsystem (Carlsson 1987, van Os & Kapur 2009) wird auch dem Serotonin- (Harrison & Burnet 1997, Carlsson et al. 1999, Steeds et al. 2015), dem Glutamat- (Wong et al. 1986, Rotaru et al. 2012) und dem Gammaaminobuttersäure- (GABA) Transmittersystem (Mizukami et al. 2000) eine Beteiligung an der Krankheitsentstehung zuattribuiert.

1.1.6.1 Dopaminsystem

Die Dopaminhypothese postuliert eine durch prä- und postsynaptische Dysregulation induzierte dopaminerge Hyperaktivität in limbischen und Hypoaktivität in frontalen Hirnregionen als Auslöser für Schizophrenie (Carlsson 1987, van Os & Kapur 2009, Krabbe et al. 2015, Steeds et al. 2015). Diese Hypothese lässt sich durch den Wirkmechanismus sowohl typischer (D2-Rezeptoren) (Reynolds 2002) als auch atypischer (D2-, D4- und 5-HT_{2A}-Rezeptoren) (Karow & Lang-Roth 2004) Neuroleptika als Antagonisten am Dopaminrezeptor ebenso stützen wie durch Studien, die einen erhöhten Dopamingehalt im mesolimbischen System schizophrener Patienten (Bai et al. 2004, Seeman et al. 2006) als auch die Induzierbarkeit einer Psychose mittels Amphetamin-getriggelter Dopaminerhöhung belegen (Breier et al. 1997, Bramness et al. 2012). Gegen eine rein dopaminver-

mittelte Pathophysiologie spricht der langsame Wirkeintritt von und das schlechte Ansprechen einer Negativsymptomatik auf Neuroleptika trotz nahezu sofortiger D2-Rezeptorblockade (Lieb 2008).

1.1.6.2 Serotonin-, Glutamat- und GABAergessystem

Die Glutamat- bzw. Serotoninhypothese basiert auf der pro-psychotischen Wirkung von Phencyclidin (PCP) im Glutamat- respektive Meskalin im Serotoninsystem ähnlich der Amphetaminpsychose des dopaminergen Systems. Hierbei wird eine Unterfunktion von Glutamat am NMDA-Rezeptor als Auslöser einer Negativsymptomatik (Paz et al. 2008), eine Überexpression von 5-HT_{1A} und 5-HT_{2A}-Rezeptoren (Nichols 2004) als begünstigend für eine Positivsymptomatik diskutiert (Penington 1994, Rotaru et al. 2012). Hierfür spricht u.a. die Wirksamkeit atypischer Neuroleptika als Antagonisten des 5-HT_{2A}-Rezeptors. Veränderungen von Synthese und Wiederaufnahme von GABA im präfrontalen Cortex scheinen mitverantwortlich für die Ausprägung von Kognitions- und Gedächtnisdefunktionen zu sein (Mizukami et al. 2000, Steeds et al. 2015).

1.1.7 Kognitive und mnestiche Defizite bei Schizophrenie

Signifikante kognitive Einschränkungen in multiplen Bereichen der Informationsverarbeitung (Braff et al. 1991, Mueser & McGurk 2004) stellen bei etwa 70% des Patientenkollektivs (Palmer et al. 1997) sowohl zu Beginn als auch im Verlauf der schizophrenen Störung (Bilder et al. 2000) pathologische und klinisch relevante Krankheitskorrelate dar (Keefe & Fenton 2007, Galletly 2009, van Os & Kapur 2009).

So wurden in verschiedenen Studien vor allem Defizite im Gesamt-IQ, Lernen und Gedächtnis (Saykin et al. 1991, Goldberg et al. 1993), Problemlösungskompetenz, der sozialen Kognition und Empathiefähigkeit sowie den Exekutiv- und Aufmerksamkeitsfunktionen (Censits et al. 1997, Aleman et al. 1999, Nuechterlein et al. 2004) festgestellt. Mögliches neurobiologisches Korrelat hiervon sind beobachtete Anomalien vor allem des limbischen Systems, des präfrontalen Cortex sowie des medialen Thalamus (Jernigan et al. 1991, Weinberger et al. 1994, Rimol et al. 2012).

Daneben wurde ebenfalls eine generalisierte Einschränkung von Gedächtnisfunktionen bis hin zur progressiven Demenz mit Enkodier- und Abrufdefiziten beschrieben (Davidson et al. 1996, Meltzer et al. 1996, Riley et al. 2000, Townsend et al. 2001, Ranganath et al. 2008, Ren et al. 2015). Es finden sich Beeinträchtigungen sowohl des deklarativen wie auch des nicht-deklarativen Gedächtnisses, der Aufmerksamkeit (Cornblatt et al. 1989), sowie des Kurz- und Langzeitgedächtnisses (Saykin et al. 1991) mit einem Fokus auf dem verbalen und episodischen Gedächtnis (Heinrichs & Zakzanis 1998, Aleman et al. 1999, van Os & Kapur 2009). Das Ausmaß des Defizits ist unbeeinflusst von Variablen wie Medikation, Alter, Schweregrad und Erkrankungsdauer (Aleman et al. 1999) und blieb sowohl in der Remissionsphase (Hoff et al. 1992) als auch

unter Therapie - im Gegensatz zur sonstigen Symptomatik – weitgehend konstant. Es wird vermutet, dass ein anfängliches mnestisches Defizit vom späteren Krankheits- oder Therapieverlauf nicht mehr beeinflusst wird (Schuepbach et al. 2002).

In Zwillingsstudien ergaben sich für gesunde, monozygote Zwillinge von Schizophreniepatienten signifikant schlechtere Testergebnisse für Kognitions- und Gedächtnisleistungen als in einer Kontrollgruppe mit gesunden, dizygoten Zwillingen – ein Hinweis auf die allgemeine Assoziation von schizophrenietypischen Genen und kognitiven Defiziten (Toulopoulou et al. 2010).

Der Ansatz, nach dem sich aus den Defiziten neurokognitiver Funktionen speziell in den Bereichen Aufmerksamkeit, Arbeitsgedächtnis, abstraktes Denken, allgemeine Intelligenz, linguistische Fähigkeiten sowie dem deklarativen, verbalen Gedächtnis Rückschlüsse auf ein genetisches Risiko für Schizophrenie ziehen lassen, erscheint vertretbar (Seidman et al. 2006).

1.2 Konzept der Endophänotypen

Trotz der in zahlreichen Studien (siehe 1.1.5) postulierten genetischen Determination der Schizophrenie konnten bislang keine eindeutigen Suszeptibilitätsgene zur Assoziation von Geno- und Phänotyp identifiziert werden.

Unter der Annahme, dass jede Erkrankung multifaktoriell bedingt ist und die beitragenden Ursachenfaktoren trotz gleicher Diagnosen von Patient zu Patient variieren können, wird postuliert, dass psychische Störungen nicht nur neurobiologische Korrelate aufweisen, sondern neurobiologisch bedingt, bzw. verursacht sind (Zobel & Maier 2004). Im Konzept der Endophänotypen werden krankheitsspezifische psychische Störungen oder Merkmale charakterisiert und eine Assoziation mit genetischen Veränderungen untersucht.

Endophänotypen werden als neuroanatomische, neurophysiologische, biochemische oder neuropsychologische Eigenschaften definiert, die mit einer Erkrankung assoziiert, unabhängig vom Krankheitsstadium ständig vorhanden, innerhalb einer Familie gemeinsam mit der Erkrankung vererbbar (Gottesman & Gould 2003) sowie zuverlässig nachweisbar, quantifizierbar und bei nicht erkrankten Familienangehörigen eines Patienten öfters anzutreffen sind als in der Gesamtbevölkerung (Chan & Gottesman 2008).

Sie fungieren als Verbindungsmöglichkeit zwischen der ausgeprägten ätiologischen Heterogenität des klinischen Phänotyps (Krankheitsvollaussprägung) und dem verantwortlichen Genotyp und dienen durch ihre weniger komplexe genetische Determination (z.B. durch die Involvierung weniger Gene, erhöhter Penetranz oder geringerer Beeinflussung durch Umwelteinflüsse) der vereinfachten Aufklärung molekulargenetischer Zusammenhänge (Leenertz et al. 2010).

Die Entstehung der Endophänotypen durch genetische Polymorphismen, Umwelteinflüsse, Medikamente oder Drogen wird angenommen (Braff et al. 2007, Bramness et al. 2012).

Zu den als Endophänotyp der Schizophrenie klassifizierbaren neuroanatomischen Abweichungen werden unter anderem Fehlfunktionen im Bereich des dorsolateralen Präfrontalcortex (DLPFC) (Weinberger et al. 2001) sowie der mit dem DLPFC vernetzten Regionen des Hippocampus und des Striatums diskutiert (Meyer-Lindenberg et al. 2005, Rimol et al. 2012, Krabbe et al. 2015).

Zu den neurophysiologischen Merkmalen zählen Auffälligkeiten der Präpulsinhibierung einer Schreckreaktion (PPI) (Freedman et al. 1999, Braff et al. 2001, Kumari et al. 2005) und die verlangsamten Augenfolgebewegung schizophrener Patienten (Holzman et al. 1988, Zobel & Maier 2004).

Endophänotypisch-neuropsychiatrisches Merkmal schizophrener Patienten ist eine Störung des deklarativen respektive episodischen Gedächtnisses (Cirillo & Seidman 2003). Es wurden funktionelle Normabweichungen bei der Aufnahme, dem Speichern und dem Abruf von kontextgebundenem Gedächtnismaterial (z.B. Wortassoziationen) (Saykin et al. 1991, Aleman et al. 1999), Störungen des Arbeitsgedächtnisses (Goldman-Rakic 1994, Gur et al. 2007, Ren et al. 2015) sowie Abweichungen bei der Rekapitulation räumlicher und verbaler Informationen zum Zweck der kurzfristigen Verarbeitung (Franke et al. 1992, Friedman & Squires-Wheeler 1994) nachgewiesen.

Als potentielle Endophänotypen der Schizophrenie werden Aufmerksamkeit, Arbeitsgedächtnis, verbales und visuelles Lernen und Memorieren, die Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit, schlussfolgerndes Denken und Problemlösung sowie soziale Kognition diskutiert (Nuechterlein et al. 1994, Green et al. 2004, Buchanan et al. 2005).

1.3 Gedächtnis

1.3.1 Lern- und Gedächtnisprozesse

Gedächtnis ist ein Konstrukt aus einer Vielzahl von Einzelprozessen und Voraussetzung jeglichen gezielten Agierens. Es ist definiert als die Fähigkeit von Aufnahme, Behalten, Ordnen und Wiederabruf von Information und determiniert aus im Rahmen von Lernprozessen integrierten Erfahrungen das Verhalten eines Individuums (Klinke & Silbernagl 2003).

Klassifikationskriterien von Gedächtnisleistungen sind neben Verarbeitungsprozessen wie Enkodierung und Einspeicherung, Konsolidierung und Festigung sowie Ablagerung und Abruf am häufigsten zeitliche und inhaltliche Charakteristika (Brand & Markowitsch 2006).

1.3.2 Zeitliche Klassifikation der Gedächtnissysteme

1.3.2.1 Sensorisches Gedächtnis

Das sensorische Gedächtnis (Ultrakurzzeitgedächtnis), speichert Informationen für Millisekunden bis Sekunden. Verschiedene Sinnesmodalitäten werden ohne Beteiligung von Bewusstsein oder Aufmerksamkeit in jeweils für sie spezifischen Systemen zwischengespeichert, gebündelt und emotional bewertet. Wenn diesen Reizen bewusste Aufmerksamkeit geschenkt wird, gelangen sie ins Kurzzeitgedächtnis (Brand & Markowitsch 2006).

1.3.2.2 Kurzzeit- und Arbeitsgedächtnis

Das Arbeits- oder Kurzzeitgedächtnis hält Informationen respektive Sinnesreize im aktiven und jederzeit verfügbaren Stadium für in der Regel 20 bis 40 Sekunden und maximal wenige Minuten bereit (Brand & Markowitsch 2006). Es spielt eine zentrale Rolle in der bewussten Informationsverarbeitung. Die Kapazität ist auf 7 +/- 2 Informationseinheiten begrenzt.

Arbeits- und Kurzzeitgedächtnis grenzen sich nur unscharf voneinander ab. Allgemein wird das Kurzzeitgedächtnis als passive Einheit mit ausschließlicher Speicherfunktion verstanden, das Arbeitsgedächtnis als Verbund komplex interagierender Subsysteme, die gespeicherte Information prozessieren (Spitzer 2002) und damit als Schnittstelle zwischen Kurz- und Langzeitgedächtnis fungieren (Brand & Markowitsch 2006).

Die an der Informationsverarbeitung beteiligten Subsysteme werden in räumlich-visuellen und phonologischen Speicher sowie episodischen Puffer differenziert. Als übergeordnete Kontrolleinheit und Verbindungsinstanz zum Langzeitgedächtnis wirkt die zentrale Exekutive. Information aus den Speichersystemen wird mit einem durch den episodischen Puffer generierten temporären Korrelat des Langzeitgedächtnisses abgeglichen, integriert und fortgeleitet (Baddeley 1998, Baddeley 2000, Tulving & I. 2000).

1.3.2.3 Langzeitgedächtnis

Zur permanenten Speicherung müssen Informationen durch repetitives bewusstes Abrufen und Zirkulation im Arbeitsgedächtnis ins Langzeitgedächtnis überführt werden (Spitzer 2002).

Es werden vier Gedächtnisleistungen unterschieden:

Als Enkodierung wird die Neuablage von Informationen im Langzeitgedächtnis; als Konsolidierung deren Interaktion mit bestehenden Gedächtnisinhalten bezeichnet. Unter Erinnerung wird die Reproduktion oder Rekonstruktion von Gedächtnisinhalten; als Vergessen den Zerfall von Gedächtnisspuren oder Interferenzen durch konkurrierende Informationen verstanden (Markowitsch 2002).

Die Güte der Verankerung von Informationen im Langzeitgedächtnis nimmt dabei mit der Relevanz, der Anzahl der vorhandenen Assoziationen und der emotionalen Bedeutung zu (Spitzer 2002, Brand & Markowitsch 2006).

Nach den Inhalten der gespeicherten Information lässt sich das Langzeitgedächtnis weiter in das explizite (deklarative) und das implizite (nicht-deklarative) Gedächtnis einteilen (Squire 1998).

1.3.2.3.1 Explizites (deklaratives) Gedächtnis

Das explizite Gedächtnis schließt Inhalte ein, die bewusst abgerufen, verbalisiert und bereits nach einmaliger Darbietung auf andere Situationen übertragen werden können (Squire et al. 1993, Reber et al. 1996).

Subgliederungen beinhalten das episodisches Gedächtnis (Speicherung emotional gefärbter, an Selbstreflexion gekoppelter individueller Ereignisse in räumlichem, zeitlichem und situativem Kontext), das semantische Gedächtnis (nicht personengebundenes, kontextfrei gespeichertes und abrufbares Faktenwissen) sowie das perzeptuelle Gedächtnis (Korrelation eines neuen Reizes mit einer bereits im semantischen Gedächtnis verankerten Information) (Wheeler et al. 1997, Tulving 2001, Tulving 2002).

Als Sonderform gilt das autobiographisch-semantische Gedächtnis, in dem Fakten der eigenen Biographie ohne Raum- und Zeitbezug gespeichert werden (Brand & Markowitsch 2006).

1.3.2.3.2 Implizites (nicht-deklaratives) Gedächtnis

Das implizite Gedächtnis beeinflusst das Verhalten unbewusst und ist in der Regel nicht verbalisierbar. Eine Speicherung ist im Vergleich zum expliziten Gedächtnis erst nach wiederholter Darbietung möglich, die Vergessensrate im Vergleich geringer (Squire & Knowlton 1995, Knowlton et al. 1996).

Die beschriebenen Unterformen beinhalten das prozedurale Gedächtnis (motorische Fertigkeiten), Bahnung einer erleichterten Informationsverarbeitung durch vorgeschaltete ähnliche Reize, die klassische Konditionierung (emotionsgebundenes Lernen) sowie das nicht-assoziative Lernen (Habituation und Sensitivierung) (Heindel et al. 1989, Squire 1998).

1.3.3 Neuronale / Anatomische Grundlagen des Gedächtnisses

Für das Gesamtgedächtnis und die Integration vorhandener Information lässt sich kein umschriebener Bereich des Gehirns definieren.

Je nach geforderter Gedächtnisleistung lassen sich jedoch (z.B. durch Rückschlüsse aus der Beschreibung spezifischer Gedächtnisdefizite bei Patienten mit selektiven Hirnschäden oder aus der radiologischen Bildgebung) Areale des Gehirns unterscheiden, die an

der jeweils geforderten Informationsverarbeitung beteiligt sind (Klinke & Silbernagl 2003, Brand & Markowitsch 2006).

In der zeitlichen Klassifikationsebene des Gedächtnisses zeichnet sich der präfrontale Cortex für das Arbeits- und Kurzzeitgedächtnis verantwortlich; Inhalte werden mittels Aktivierung von Neuronen als Hirnaktivität gespeichert (Klinke & Silbernagl 2003, Bernard et al. 2004, Levine et al. 2004, Ferbinteanu et al. 2006).

Das Langzeitgedächtnis hingegen kodiert Informationen - abhängig von ihrem Inhalt - in Form neuronaler Verbindungen in verschiedenen Arealen des Cortex und subcorticaler Strukturen (Klinke & Silbernagl 2003).

Der Neokortex speichert hierbei Inhalte des expliziten Gedächtnisses.

Informationen des episodischen Gedächtnisses sind vorrangig im rechten Frontal- und Temporalcortex, die des semantischen Gedächtnisses im Temporallappen gespeichert (Squire et al. 2004, Blumenfeld & Ranganath 2007, Gur et al. 2007, Spaniol et al. 2009).

Am deklarativen Lernen sind Strukturen des limbischen Systems, insbesondere der Hippocampus und die parahippocampale Region des medialen Temporallappens beteiligt. Während die parahippocampale Region für die Dauer der Informationsrepräsentation und die Vertrautheit der Information verantwortlich ist (Eichenbaum 2000), ist der Hippocampus an der Ausprägung des episodischen Gedächtnisses beteiligt (Tulving et al. 1991, Vargha-Khadem et al. 1997, Eldridge et al. 2000).

Das implizite Gedächtnis hingegen ist eine Leistung unterschiedlicher, dem Bewusstsein nicht zugänglicher, subcortikaler Strukturen.

Kleinhirn und Basalganglien - insbesondere das Striatum – gelten neben Arealen des frontalen und präfrontalen Cortex (Gabrieli et al. 1997, Baddeley 1998) als Speicherort des prozeduralen Gedächtnisses (Knowlton et al. 1996, Gabrieli 1998).

Für die Konditionierungsleistung sind vor allem Cerebellum (Blaxton et al. 1996, Gabrieli 1998) und Amygdala (Bechara et al. 1995, Seidenbecher et al. 2003) verantwortlich, die auch für die emotionale Bewertung von Gedächtnisinhalten eine Rolle spielen (Richter-Levin & Akirav 2003).

Als neuroanatomische Krankheitskorrelate in Hinsicht auf die Schizophrenie werden für (prä-)frontale und temporale Cortexareale, die wie oben aufgeführt für explizite Gedächtnisleistungen Bedeutung haben, bei schizophrenen Patienten und ihren gesunden Angehörigen neurostrukturelle Auffälligkeiten (u.a. Modifikation des Glutamatstoffwechsels, veränderte synaptische und dendritische Konnektivität) beschrieben (Weinberger et al. 1994, Harrison 2004); ebenso sind temporal und hippocampal reduzierte Hirnvolumina schizophrener Patienten mit Gedächtnisstörungen assoziiert (Bogerts et al. 1991, Wright et al. 2000, O'Driscoll et al. 2001, Seidman et al. 2002, Rimol et al. 2012).

1.3.4 Neurophysiologische Grundlagen des Gedächtnisses

Gedächtnisbildung wird primär über aktivitätsabhängige Selektion und Veränderung neuronaler Verbindungen, sei es während der Embryonalentwicklung zur erstmaligen Modellierung des Zentralnervensystems, postnatal in Reaktion auf Umwelteinflüsse zur Ausdifferenzierung und Feinkalibrierung neu angelegter Hirnstrukturen oder im ausgereiften Nervensystem zum bedarfsadaptierten Lernen, vermittelt (Klinke & Silbernagl 2003).

Gedächtnisengramme beruhen auf der Modifikation der Wechselwirkung zwischen Neuronen und der daraus resultierenden simultanen Veränderung synaptischer Neuronenverbindungen. Bei Wiederauftreten eines ähnlichen Reizes werden bevorzugt die bereits gebahnten Verbindungen aktiviert (Klinke & Silbernagl 2003).

Neue Erinnerungen werden über Proteinneusynthese mit bereits verankerten Gedächtnisinhalten verbunden (Routtenberg & Rekart 2005), die neue Information nach dem Prinzip der Gedächtniskonsolidierung in stabilen Proteinketten kodiert (Schafe et al. 1999).

Die Modulation neu ausgebildeter Synapsen in ihrer Signalintensität durch aktivitätsabhängige morphologische oder physiologische Veränderungen wird als synaptische Plastizität bezeichnet (Richter-Levin & Akirav 2003).

Die Modulationsimpulse werden in Auswirkung (Potenzierung oder Depression), Dauer (Kurz- oder Langzeitplastizität) und Spezifität (homo- oder heterosynaptisch) unterschieden.

Langzeitpotenzierung (LZP) führt durch gleichzeitige Aktivierung multipler Afferenzen zu lang anhaltenden Verbesserungen der synaptischen Übertragung; eine unzureichende Korrelation von präsynaptischer Aktivität mit nachgeschalteten Zellverbänden bewirkt hingegen eine Langzeitdepression (LZD).

Physiologisch bewirkt hierbei vor allem der zelluläre Calciumioneneinstrom (stärker ausgeprägt bei der LZP) durch Depolarisation spannungsabhängiger Calciumkanäle respektive des NMDA-Rezeptors im Sinne einer differentiellen Calciumwirkung die Aktivierung einer Vielzahl molekularer Mechanismen, z.B. der (De-)phosphorylierung von Membranproteinen durch calciumabhängige Proteinkinasen und -phosphatasen oder einer modifizierten präsynaptischen Transmitterausschüttung respektive postsynaptische Rezeptormodifikation, eine - vorwiegend kurzfristige - funktionelle Veränderung der Synapse (Kandel & Jessell 2000, Klinke & Silbernagl 2003).

Langfristige synaptische Veränderungen werden überwiegend durch die calciumabhängige Aktivierung von Calmodulin und der Adenyat- und cAMP-Cyclase mit konsekutiver Mehrexpression z.B. von Transkriptionsfaktoren, Rezeptormolekülen und Enzymen vermittelt und bewirken langfristig unter anderem elektronenmikroskopisch nachweisbare synaptische Veränderungen (Kandel & Jessell 2000, Klinke & Silbernagl 2003, Lynch 2004).

Eine Zuordnung der verschiedenen Neurotransmitter zu den entsprechenden Gedächtnisleistungen ist nur orientierend möglich; der größte Einfluss wird den Transmittern Dopamin, Acetylcholin und Glutamat – abhängig vom anatomischen Ort des Wirkens - zugeschrieben.

Noradrenalin und Acetylcholin weisen im limbischen System am ehesten eine Assoziation mit dem deklarativen Gedächtnis, Dopamin in den Basalganglien hingegen am ehesten mit dem prozeduralen Gedächtnis inklusive motivationalem und motorischem Lernen, im Mittelhirn mit der hippocampalen Gedächtnisbildung und in der Übersicht bei insgesamt erhöhten Dopaminspiegeln mit einer verbesserten, bei reduzierten Dopaminspiegeln mit einer verschlechterten Gedächtnisleistung, auf (Campanella et al. 1987, Morris et al. 2003, Knecht et al. 2004, Schott et al. 2004, Knutson & Cooper 2005, Lisman & Grace 2005, Tobler et al. 2005, Steeds et al. 2015).

Abnehmende Acetylcholinspiegel sind ebenfalls mit einer reduzierten Gedächtnisleistung assoziiert, hier wird ein modulatorischer Effekt des Acetylcholins auf hippocampale und neocortikale Strukturen vermutet (Fine et al. 1997, Meeter et al. 2004, Nyberg 2005).

Glutamat ist entscheidend an multiplen Gedächtnisleistungen beteiligt (Carlsson et al. 1999, Coyle 2004), als primärer exzitatorischer Neurotransmitter des Gehirns wird Glutamat von etwa 70% der präsynaptischen Neuronen des Gehirns freigesetzt (Seeburg et al. 2006). Eine besonders hohe Konzentration zeigt sich im Hippocampus, einer Struktur, die vor allem bei der Verarbeitung expliziter Gedächtnisinhalte eine wichtige Rolle spielt und bei schizophrenen Patienten häufig als verändert imponiert (Cullen et al. 2006, Ross et al. 2006, Keshavan et al. 2008, Pennington et al. 2008, Rotaru et al. 2012).

Ein wichtiger Bestandteil der glutamatergen Signaltransduktion ist der NMDA-Rezeptor. Er ist vor allem für die Langzeitpotenzierung des Gedächtnisses wichtig und wird – anhand der Tatsache, dass NMDA-Rezeptorantagonisten wie PCP oder Ketamin psychotische Symptome induzieren können - mit der Schizophrenie in Zusammenhang gebracht (Newcomer et al. 1999, Olney et al. 1999, Javitt & Coyle 2004, Jones et al. 2011).

1.3.5 Genetik und Gedächtnis

Das Gedächtnis ist großteils polygenetisch determiniert (Plomin 2001, Papassotiropoulos et al. 2006, Vassos et al. 2010).

Genetische Aspekte bedingen nach Model-Fitting-Analysen aus Ergebnissen von Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien etwa 50-80% der allgemeinen kognitiven Funktionen, wobei das Arbeitsgedächtnis die größte Heritabilität aufweist (Chipuer et al. 1990, McClearn et al. 1997, Plomin 2001).

Die Formen der genetischen Einwirkung sind dabei vielfältig, es werden unter anderem Modifikationen molekularer neuronaler Prozesse wie die vermehrte Expression von

NMDA-Rezeptoren oder Gen-Interaktionen im Rahmen der Emergenz beschrieben (Lykken et al. 1992) mit einer Zunahme des genetischen Einflusses auf kognitive Fähigkeiten mit zunehmendem Lebensalter (McClearn et al. 1997, Plomin & Craig 1997, Vassos et al. 2010).

Daneben spielen auch Umweltfaktoren mit geteilten und nicht-geteilten Einflüssen aus der Umgebung eine Rolle. Geteilte Umweltfaktoren liegen als gemeinsames Merkmal in Familien vor, so z.B. mit einem Einfluss auf die Gedächtnisleistung von 40% für Zwillinge, 25% für Geschwister und 20% für Eltern und ihre Kinder (Chipuer et al. 1990). Der Einfluss der nicht-geteilten Umweltfaktoren auf die Gedächtnisleistung beträgt etwa 10% (Plomin & Craig 1997).

1.4 CNTNAP2 Gen

1.4.1 Genstruktur und Rezeptoren

Das Contactin-associated protein-like 2 Gen (CNTNAP2 Gen) erstreckt sich über eine Länge von mehr als 2,3 Mb des langen Arms von Chromosom 7 (7q35–q36.1, etwa 1,5% des gesamten Chromosoms), enthält 23 Introns, 24 Exons (transkribierbar in neun mRNAs) sowie fünf alternative Promotorenregionen und ist eines der größten Gene im menschlichen Genom (Nakabayashi & Scherer 2001, Scherer et al. 2003, Rodenas-Cuadrado et al. 2013).

1.4.2 Genexpression und Regulation

Während der Hirnentwicklung findet sich die höchste Expression von CNTNAP2 in Anteilen des Frontalhirns, des Striatums und des dorsalen Thalamus; im Cortex wird eine erhöhte Anreicherung in den Schichten II-V vor allem der Broca Region beschrieben (Abrahams et al. 2007, Alarcón et al. 2008).

Diese Expressionsmuster korrelieren mit dem für die Modulation höherer kognitiver Funktionen assoziierten cortico-striato-thalamischen Kreislauf und spiegeln die Stellung von CNTNAP2 für die Ausbildung einer normalen Sprach- und Ausdrucksfähigkeit wider (Bakkaloglu et al. 2008).

Bislang sind vier an der Regulation der Genexpression von CNTNAP2 beteiligte Transkriptionsfaktoren beschrieben: Storkhead box 1A (STOX1A), Transcriptionfactor 4 (TCF4), Forkhead box P2 (FOXP2) und Forkhead box P1 (FOXP1).

STOX1A ist ein in weiten Teilen des Gehirns exprimierter Transkriptionsfaktor, der an regulatorischen Regionen im ersten Intron von CNTNAP2 bindet. Eine vermehrte Expression von STOX1A führt zu verminderter mRNA und Contactin-associated protein-

like 2 (Caspr2) Expression, es wirkt reprimierend auf die Genexpression (Van Abel et al. 2012).

TCF4 hingegen bindet nahe der 5'-Region des Gens und ist ein Aktivator der CNTNAP2 Expression; Hauptexpressionsorte von TCF4 sind Neocortex und Hippocampus, weniger Striatum, Thalamus und Kleinhirn (Forrest et al. 2012).

FOXP1 und FOXP2 sind Transkriptionsfaktoren der Forkhead-Box Familie und werden sowohl in Cortex, Striatum und Thalamus als auch im Kleinhirn exprimiert. Die Wirkung auf die Genexpression ist mit der von STOX1A vergleichbar; als wahrscheinlicher Genbindungsstelle für FOXP2 wurde ebenfalls ein Areal innerhalb des ersten Introns von CNTNAP2 sowie die Region um Exon 13-15 identifiziert (Vernes et al. 2008, Panaitof et al. 2010).

Während der Gehirnentwicklung wird CNTNAP2 durch hohe TCF4-Konzentrationen in höheren Schichten des Cortexes stark vermehrt, in Arealen der Basalganglien und des Striatums durch korrespondierend hohe Konzentrationen von FOXP1 und FOXP2 deutlich vermindert exprimiert.

1.4.3 Funktion des CNTNAP2-Proteins (Caspr2)

Contactin assoziierte Gene sind Mitglieder der Neurexin (NRXN-Gene) Familie, die für eine Gruppe von für neuronale Zell-Zell-Interaktionen verantwortliche Transmembranproteine und Rezeptoren des Zentralnervensystems (Axolemm, Dendrit, Plasmamembranen und Kaliumkanälen) kodieren (Missler & Sudhof 1998, Dean & Dresbach 2006).

Die Genfamilie exprimiert Neurexine in zahlreichen Isoformen, welche gemeinsam mit Caspr2, einem 180-kD schweres Transmembranprotein und Genprodukt von CNTNAP2, unter anderem an der Interaktion zwischen Neuron und Glia am myelinisierten Axon sowie für neuronale Adhäsion und Signaltransduktion beteiligt ist (Traka et al. 2003). Es konnte eine regulatorische Rolle bei der Expression von Kaliumkanälen in der juxtaparanodalen Region der Ranvierschen Schnürringe des Zentralen- und Peripheren Nervensystems und somit eine Beteiligung an der Aufrechterhaltung des internodalen Ruhepotentials sowie der saltatorischen Reizweiterleitung nachgewiesen werden (Poliak et al. 1999); eine entscheidende Rolle der CNTNAP2 Expression in frühen Phasen der Hirnentwicklung wird vermutet (Abrahams et al. 2007, Alarcón et al. 2008, Penagarikano & Geschwind 2012).

Neben oben genannten Funktionen wird ein grundlegender Zusammenhang zwischen CNTNAP2 Expression und der neuronalen Zellmigration respektive dem Ausbilden neuronaler Netzwerke sowie der Koordination synaptischer Aktivität vermutet.

Bei Patienten mit homozygoten CNTNAP2 Mutationen wurden histologische Veränderungen des Cortex, der Amygdala und des Hippocampus (verringerte Anzahl von Zellverbindungen zwischen Substantia grisea und alba, mit corticaler Verdickung einhergehende erhöhte Astrozytendichte) ebenso wie ektope Neurone in der Substantia alba sowie Gliazellen im Cortex beschrieben (Penagarikano et al. 2011).

Im Mausmodell konnten bei CNTNAP2 Knockoutmäusen eine verminderte Anzahl GABAerger Interneurone im Cortex, Striatum und Hippocampus ebenso wie eine Verringerung dendritischer Nervenfasern in corticalen Neuronen nachgewiesen werden. Vergleichbare morphologische Korrelate des CNTNP2 Mangels wurden auch beim Menschen festgestellt (Penagarikano & Geschwind 2012).

In Zellkulturen konnte eine verringerte Amplitude synaptischer Antworten bei gleichbleibender Frequenz ebenso wie eine Verschlechterung in der Synchronisierung der Aktivität neuronaler Netze nachgewiesen werden (Rodenas-Cuadrado et al. 2013).

1.4.4 CNTNAP2 und psychische Erkrankungen

Die genetischen Grundlagen komplexer neurologischer Erkrankungen sind bislang noch kaum verstanden, sei es aufgrund der zahlreichen beteiligten Gene, teils aufgrund der interindividuell sehr unterschiedlichen Phänotypen. Tauchen bestimmte Gene jedoch häufig bei einer breiten Palette an verschiedenen Erkrankungen auf, lassen sich Rückschlüsse auf grundlegende genetische Gemeinsamkeiten der Erkrankungen ziehen.

Für CNTNAP2 wurde in genomweiten Assoziationsstudien bislang eine Assoziation mit dem Gilles de la Tourette Syndrom, Schizophrenie, cortical dysplastisch-fokaler Epilepsie (CDFE), Autismus, Sprachentwicklungsstörungen, mentaler Retardierung sowie mit dem Pitt-Hopkin-like Syndrome 1 beschrieben (Alarcón et al. 2008, Arking et al. 2008, Vernes et al. 2008, Newbury et al. 2011, Ji et al. 2012).

Für das – interindividuell verschieden stark ausgeprägte - Auftreten des Großteils der oben beschriebenen Erkrankungen zeichneten sich nach dem vorliegenden Datenmaterial heterozygote Genveränderungen verantwortlich; das homozygote (bi-allele) Auftreten von Genaberrationen in CNTNAP2 ging jeweils mit schweren Krankheitsausprägungen und der regelhaften Einschränkung höherer kognitiver Funktionen einher (CDFE respektive Pitt-Hopkins-like Syndrom (Zweier et al. 2009)).

Ätiologisch werden unter anderem Proteinsynthesestörungen als Ursache der Krankheitsentstehung vermutet; beschrieben z.B. anhand einer homozygoten Punktmutation in CNTNAP2 innerhalb einer Population von Amish, die für ein verfrühtes Stopcodon und damit unfunktionales Protein kodierte und konsekutiv mit einem Symptomkomplex bestehend aus CDFE, motorischen, geistigen und sozialen Entwicklungsstörungen sowie Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätssyndrom einherging (Strauss et al. 2006, Jackman et al. 2009).

Auch abseits von Proteinmodifikationen konnten Erkrankungen – vornehmlich Schizophrenie und Autismus – ätiologisch durch Affektion von Promotor- und Transkriptionsproteinregionen durch Deletionen oder Mutationen in Introns (Alarcón et al. 2008, Friedman et al. 2008) bzw. durch heterozygote Chromosomentranslokationen z.B. in Intron 8 (assoziiert mit Tourette Syndrom, geistiger Behinderung und Zwangsstörungen) erklärt werden (Verkerk et al. 2004, Belloso et al. 2007).

Bezüglich Sprachentwicklung und -verständnis konnten in mehreren Studien Single Nukleotid Polymorphismen (SNPs) und Aberrationen von CNTNAP2 identifiziert werden, die mit dem Zeitpunkt des ersten Wortes (rs2710102) bzw. des ersten Satzes (rs1718101) (Alarcón et al. 2008) sowie expressiven und rezeptiven Sprachfähigkeiten assoziiert waren (Vernes et al. 2008, Newbury et al. 2011).

Auch für die Suszeptibilität von autistischen Erkrankungen konnten genetische Korrelate identifiziert werden; so ist mit dem rs7794745 Polymorphismus in Intron 2 ebenso wie mit den SNPs rs7794745, rs2710102 und rs2710102 ein erhöhtes familiäres Risiko für Autismus und soziale Verhaltensstörungen assoziiert (Arking et al. 2008, Bakkaloglu et al. 2008, Scott-Van Zeeland et al. 2010, Tan et al. 2010, Dennis et al. 2011).

Im Mausmodell konnte für CNTNAP2 Knockoutmäuse eine erhöhte Rate stereotypen und repetitiven Verhaltens ebenso wie eine soziale Deprivation nachgewiesen werden (Penagarikano et al. 2011).

Eine Übersicht über die Ergebnisse bereits veröffentlichter Studien zwischen CNTNAP2 SNPs und kognitiven Phänotypen gibt *Tabelle 1*.

Tabelle 1: Überblick Assoziationsstudien von CNTNAP2 SNPs und kognitiven Phänotypen

SNP	Diagnose
rs10246256	Gestörte Sprachentwicklung
rs1718101	Autismus
rs17236239	Gestörte Sprachentwicklung
rs1922892	Gestörte Sprachentwicklung
rs2538976	Gestörte Sprachentwicklung
rs2538991	Gestörte Sprachentwicklung
rs2710102	Autismus, gestörte Sprachentwicklung, Leseschwäche
rs2710117	Gestörte Sprachentwicklung
rs4431523	Gestörte Sprachentwicklung
rs759178	Gestörte Sprachentwicklung
rs802524	Schizophrenie, bipolare Persönlichkeitsstörung
rs802568	Schizophrenie, bipolare Persönlichkeitsstörung
rs851715	Gestörte Sprachentwicklung
s17236239	Autismus

SNP	Diagnose
s2710102	Gestörte Sprachentwicklung
s7794745	Autismus

Tabelle nach (Rodenas-Cuadrado et al. 2013), Assoziationsstudien von (Alarcón et al. 2008, Arking et al. 2008, Vernes et al. 2008, Newbury et al. 2011, Ji et al. 2012).

1.5 Fragestellung

Modifikationen ebenso wie SNPs des CNTNAP2 Gens wurden bereits in der Vergangenheit mit psychiatrischen Erkrankungen wie Gilles de la Tourette Syndrom, Schizophrenie, cortical dysplastisch-fokaler Epilepsie, Autismus, Sprachentwicklungsstörungen, mentaler Retardierung sowie mit dem Pitt-Hopkins-like Syndrome 1 assoziiert (Alarcón et al. 2008, Vernes et al. 2008, Penagarikano & Geschwind 2012, Rodenas-Cuadrado et al. 2013).

Ein Zusammenhang mit Schizophrenie konnte bislang allerdings trotz beschriebener gemeinsamer genetischer Basis für Autismus und schizophrene Erkrankungen (Burbach & van der Zwaag 2009, Paula-Perez 2012) lediglich in einer Studie für einen SNP nachgewiesen werden (Ji et al. 2012).

Dem klassischen Kandidatengenansatz folgend hat CNTNAP2 daher eine hohe Plausibilität für einen Einfluss auf Gehirn(fehl-)funktionen, alterierende Gedächtnisleistungen und auf die Schizophrenie, zu deren Kernsymptomen unter anderem kognitive Defizite zählen (Goldman-Rakic 1994, Elissalde et al. 2011).

In der vorliegenden Studie wurden daher Single Nukleotid Polymorphismen des CNTNAP2 Gens zum einen in einer Fall-Kontroll-Studie auf eine Assoziation mit dem Auftreten von Schizophrenie, zum anderen in einer Endophänotypenstudie ebenso wie in einer Haplotypanalyse auf ihren Einfluss auf die Gedächtnisleistung (quantifiziert anhand dem Abschneiden in der Wechsler Memory Scale Revised) in einer Studienpopulation bestehend aus 349 schizophrenen Patienten und 503 gesunden Kontrollprobanden hin untersucht.

2 Material und Methoden

2.1 Vorabbedingungen

Die vorliegende Studie wurde an der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München nach Zustimmung der lokalen Ethikkommission durchgeführt. Alle Probanden wurden über die Zielsetzung der Studie sowie die Anonymisierung der erhobenen Daten und Blutproben aufgeklärt; die Studienteilnahme erfolgte freiwillig nach Einholen unterschriebener Einverständniserklärungen.

2.1.1 Studiendesign

In die vorliegende Assoziationsstudie wurden insgesamt 852 Teilnehmer eingeschlossen. Die Assoziation von 29 SNP-Varianten des CNTNAP2 Gens zu Schizophrenie und kognitiver Leistungsfähigkeit wurden anhand der deutschen Adaptation der *Wechsler Memory Scale-Revised* (WMS-R) untersucht (Härting et al. 2000).

2.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Alle Kontrollprobanden mussten das achtzehnte Lebensjahr vollendet haben; beide Elternteile sowie die Großeltern mussten deutscher Abstammung sein. Der Studienausschluss erfolgte bei vorliegender oder stattgehabter psychiatrischer oder neurologischer Erkrankung, Achse I- oder II- Störungen, Alkohol- Medikamenten- und Drogenmissbrauch sowie psychologischer oder psychiatrischer Vorbehandlung sowohl in der Eigen- als auch in der Familienanamnese.

Im Patientenkollektiv waren aktuelle stationäre Behandlung, schizoaffektive Störungen, Schizophrenie als Folge entzündlicher, endokriner oder neoplastischer Erkrankungen sowie eine drogeninduzierte Schizophrenie obligatorische Ausschlusskriterien.

2.2 Rekrutierung der Teilnehmer

2.2.1 Zusammensetzung des Studienkollektives

Kontrollprobanden wurden mittels Zufallsstichprobe aus der Gesamtbevölkerung Münchens anhand von Verzeichnissen des Einwohnermeldeamtes ausgewählt. Nach postalischer Übersendung allgemeiner Studienunterlagen meldeten sich interessierte Teilnehmer zurück und wurden in das weitere Auswahlverfahren aufgenommen.

Das Patientenkollektiv wurde in der Psychiatrischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität rekrutiert und beinhaltete Personen kaukasischer Abstammung mit der nach DSM-IV gesicherten Diagnose Schizophrenie.

2.2.2 Kontrollprobanden

Als Kontrollkollektiv wurden 503 nicht-verwandte Probanden aus der Gesamtbevölkerung Münchens ausgewählt. Nach Rückmeldung auf die erstmalig postalische Kontaktaufnahme wurde mit den Interessenten ein standardisiertes Telefonscreening durchgeführt. Hierbei wurden die Probanden über Inhalt und Ablauf der Studie informiert; des Weiteren zu psychiatrischen und organischen Vorerkrankungen, Medikamenteneinnahme und Suchtverhalten bei sich und Verwandten bis dritten Grades befragt.

Ergaben sich keine Ausschlusskriterien wurde ein ausführlicher Fragebogen zur psychiatrischen und somatischen Anamnese des Probanden und seiner Angehörigen (mit Fokus auf affektiven Störungen, Angst- Zwang- und Panikstörungen sowie stattgehabten ambulanten respektive stationären psychiatrischen Interventionen) als auch einer biographischen Anamnese mit Fragen zum beruflichen Werdegang, zur Lebenszufriedenheit, zu Krankenhausaufenthalten, Familienstand, Alter, Größe, Gewicht und Herkunft zugeschickt.

Lagen auch hier weder bei der Eigen- noch bei der Familienanamnese Ausschlusskriterien vor erfolgte die Einladung zum klinischen Interview (s. Kap. 2.3). Hierbei kam das Strukturierte Klinische Interview für DSM-IV zur Abklärung von Achse I- (SKID I) respektive Achse II- (SKID II) (s. Kap. 2.3.1.4) Störungen des Probanden (Wittchen et al. 1997), das Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI) zur Evaluation des Zusammenhangs belastender Lebensereignisse und der Patientengesundheit (Richter & Guthke 1996) und das *Family History Assessment Module* (FHAM) zur Beurteilung der psychiatrischen Verfassung von Verwandten ersten Grades (Rice et al. 1995) zur Anwendung (s. Kap. 2.3.1.5). Zum Ausschluss kognitiver Einschränkungen wurde bei Probanden, die das 60. Lebensjahr vollendet hatten, zusätzlich der *Mini-Mental-State-Test* (MMST) (s. Kap. 2.3.1.2) durchgeführt (Folstein et al. 1975).

2.2.3 Patientenkollektiv

Als Patientenkollektiv wurden 349 Patienten mit Schizophrenie gemäß DSM-IV aus der Psychiatrischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München sowie Kooperationskliniken rekrutiert und in das Studienzentrum eingeladen. Nach biographischer Anamnese und orientierender Diskussion der Krankengeschichte wurde eine Evaluation des psychiatrischen Status mit Hilfe des Strukturierten Klinischen Interviews für DSM-IV (SKID I&II) (Wittchen et al. 1997) sowie eine Einordnung eventuell vorhandener Krankheitssymptome anhand der *Positive And Negative Syndrome Scale* (PANSS) (Kay et al.

1987) vorgenommen. Mittels des *Family History Assessment Module* (FHAM) (Rice et al. 1995) wurden auch hier psychiatrische Diagnosen unter Verwandten ermittelt; eine positive Familienanamnese führte nicht zum Studienausschluss.

Waren nach Rücksprache mit psychiatrisch bzw. psychologisch erfahrenen Kollegen alle Voraussetzungen erfüllt, wurden die Probanden in die Studie eingeschlossen.

2.3 Klinisches Interview

2.3.1 Kontrollgruppe

2.3.1.1 Körperliche Untersuchung

An den einbestellten Kontrollprobanden wurde eine standardisierte, orientierende klinisch-neurologische Untersuchung zum Ausschluss studienrelevanter Erkrankungen durchgeführt. Gezielt wurde während der neurologischen Anamnese nach Bewegungs- und Empfindungsbeschwerden, Seh- und Hörschäden, Krampfanfällen, Schwindel und Miktionsbeschwerden gefragt. Die körperliche Untersuchung beinhaltete neben einer Untersuchung der Hirnnerven, des Reflexstatus sowie der Evaluation sensorischer, motorischer und koordinativer Fähigkeiten auch eine Blutabnahme zur späteren Genotypisierung.

Ergaben sich Hinweise auf vorliegende neurologische Erkrankungen, wurde der Proband nach Rücksprache mit den betreuenden Ärzten von der Studie ausgeschlossen.

2.3.1.2 Mini-Mental-State-Test (MMST)

Der *Mini-Mental-State-Test* (MMST) (Folstein et al. 1975) dient zur klinischen Erfassung und Verlaufsbeurteilung von Demenzerkrankungen. Dem Test wurden Probanden unterzogen, die zum Zeitpunkt der Studie älter als 60 Jahre waren.

Geprüft werden die Aufgabenfelder Orientierung, Merkfähigkeit, Rechenfähigkeit, Aufmerksamkeit, Sprache, Lesen und Schreiben. Die Auswertung erfolgt anhand einer Punkteskala von 0 bis 30 Punkten, ein Punktwert von unter 26 weist dabei auf ein mögliches kognitives Defizit hin (Cockrell & Folstein 1988). Probanden mit einem Punktwert kleiner 27 wurden von der Studie ausgeschlossen.

2.3.1.3 Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI)

Das Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI) dient der Evaluation des Zusammenhangs von belastenden Lebensereignissen und Patientengesundheit.

Anhand 50 standardisierter Items werden Lebensereignisse bis zwei Jahre vor Testung erhoben, durch den Patienten gewichtet und die Gesamtbelastung anhand eines Auswer-

tungsprotokolls ermittelt. Mehr als zwei Jahre zurückliegende oder zu erwartende zukünftige Ereignisse können bei entsprechender Relevanz zusätzlich gewichtet werden (Richter & Guthke 1996).

2.3.1.4 Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV (SKID I&II)

Das Strukturierte klinische Interview für DSM-IV (SKID) nach Wittchen ermöglicht dem Interviewer, schnell und valide Einsicht in frühere und aktuelle psychische Störungen des Patienten zu gewinnen (Wittchen et al. 1997).

Das SKID-I dient hierbei der Erfassung von Achse I-Störungen (nach DSM-IV) einschließlich affektiver und psychotischer Störungen, Angst- und Panikstörungen, somatoformer sowie Ess- und Anpassungsstörungen.

SKID-II wiederum dient der Erhebung von Achse II-(Persönlichkeits-)Störungen. Man differenziert hierbei dependente, zwanghafte, selbstunsichere, depressive, paranoide, negativistische, schizotypische, schizoide, histrionische, narzisstische, antisoziale sowie Borderline-Persönlichkeiten.

Daneben werden auch Kodiermöglichkeiten für die Beurteilung von Achse III (somatische Störungen), Achse IV (psychosoziale Beeinträchtigungen) und Achse V (globales Funktionsniveau) angeboten.

2.3.1.5 Family History Assessment Module (FHAM)

Das *Family History Assessment Module* (FHAM) dient dem Nachweis psychiatrischer Erkrankungen bei Familienmitgliedern der Probanden (Rice et al. 1995). Hierbei wurde vor allem auf affektive Störungen, Drogen- und Medikamentenmissbrauch, Schizophrenie, neurotische Störungen sowie die Inanspruchnahme psychiatrischer Unterstützung in der Vergangenheit abgestellt. Der Studienausschluss erfolgte bei Erkrankungen von Verwandten bis einschließlich dritten Grades.

2.3.2 Schizophrene Patienten

2.3.2.1 Standardisierte Anamneseerhebung

Die initiale Anamneseerhebung sollte – neben einem Überblick über die Krankheitsgeschichte des Patienten – vor allem Hinweise auf eine eventuell vorhandene Suchterkrankung liefern. Sie umfasste stattgehabte ambulante und stationäre Therapie, Medikamenteneinnahme, Drogen- und Alkoholkonsum, Suizidversuche sowie eine Sozialanamnese einschließlich schulischem und beruflichem Werdegang, Wohnsituation und familiärer Situation.

2.3.2.2 Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV)

Die Diagnose Schizophrenie wurde bei den Patienten nach DSM-IV (APA 2013) erhoben. Als Kriterien hierfür gelten das Vorliegen bizarrer Wahnphänomene, das mindestens einmonatige Vorhandensein zweier charakteristischer Symptome (Halluzination, desorganisiertes bzw. katatonisches Verhalten, Affektverflachung, Alogie, Abulie) mit bestehender deutlicher sozialer Dysfunktion oder eine über mindestens sechs Monate bestehende Prodromalsymptomatik. Die Symptome dürfen sich darüber hinaus nicht auf schizoaffektive Störungen mit psychotischen Merkmalen, körperliche Erkrankungen, Drogen- oder Medikamentenwirkung zurückführen lassen.

2.3.2.3 Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV (SKID-I)

SKID-I erfolgte zur Abklärung und genaueren Einteilung der Diagnose Schizophrenie. Die Patienten wurden nach paranoider, katatoner, desorganisierter, undifferenzierter und residualer Schizophrenie unterteilt. Der aktuelle und der schlechteste jemals vorliegende Gesundheitszustand wurden als Maß für die Schwere der Erkrankung herangezogen. Die Klassifizierung der Schizophrenie hatte, ebenso wie eventuell vorhandene Achse I-Komorbiditäten, keinen Einfluss auf Studienein- oder ausschluss.

2.3.2.4 Positive And Negative Syndrome Scale (PANSS)

Die *Positive And Negative Syndrome Scale* (PANSS) (Kay et al. 1987) gibt Aufschluss über den Schweregrad der Symptome bei Patienten mit Schizophrenie. Die Symptome werden einer Positivskala, einer Negativskala oder einer psychopathologischen Globalskala zugeordnet. Die Bewertung erfolgt für 30 Symptome anhand einer jeweils von 1 (nicht vorhanden) bis 7 (stark ausgeprägt) reichenden Skala. Daneben fließen in die Beurteilung der Patienten auch Berichte über das tägliche Verhalten, während des Interviews beobachtete affektive, kognitive und psychomotorische Dysfunktionen sowie die allgemeine Aufnahme- und Interaktionsfähigkeit mit ein.

2.3.2.5 Family History Assessment Module (FHAM)

Das FHAM wurde zur Vervollständigung der Familienanamnese zwar durchgeführt, hatte jedoch keinen Einfluss auf die Studienteilnahme.

2.4 Die Wechsler Memory Scale Revised (WMS-R)

Die *Wechsler Memory Scale Revised* (WMS-R) in ihrer deutschen Adaptation (Härting et al. 2000) ist ein ursprünglich englischsprachiges, neuropsychologisches Testverfahren zur Evaluation multipler Gedächtnisfunktionen. Die WMS-R erfolgt als Einzeluntersuchung, ein Testdurchlauf dauert etwa 45 Minuten. Das Testvorgehen und die Bewertung der Probanden erfolgt dabei nach den Kriterien des Handbuchs der WMS-R.

Die Auswertung der WMS-R führt über ihre in Komplexität und Abrufmodalität (freier und geleiteter Abruf sowie Wiedererkennung) variable Aufgabenstellung zur Bewertung von fünf in der Gedächtnisforschung fest etablierten Leistungsaspekten:

dem verbalen und visuellen Gedächtnis (gemeinsam als allgemeinem Gedächtnis), der Aufmerksamkeits- und Konzentrationsleistung sowie der verzögerten Wiedergabe.

Die Testbatterie der WMS-R setzt sich aus 13 Untertests zusammen, welche im Folgenden besprochen und in der Auswertung unterschiedlich gewichtet werden. *Tabelle 2* zeigt die Zuordnung und Wichtung der entsprechenden Untertests zu den Leistungsaspekten. Die gelistete Reihenfolge entspricht jener während der Testdurchführung.

Tabelle 2: Zuordnung der Untertest zu den Leistungsaspekten der WMS-R

Untertest (Gewichtung bei Auswertung)	Leistungsaspekte	
Information und Orientierung (Ein- und Ausschlusskriterium)	Erhebliche Leistungsbeeinträchtigungen	
Logisches Gedächtnis I (2)	Verbales Gedächtnis	Allgemeines Gedächtnis
Verbale Paarerkennung I (1)		
Figurales Gedächtnis (1)	Visuelles Gedächtnis	
Visuelle Paarerkennung I (1)		
Visuelle Wiedergabe I (1)		
Mentale Kontrolle (1)	Aufmerksamkeit und Konzentration	
Zahlenspanne (2)		
Blockspanne (2)		
Logisches Gedächtnis II (1)	Verzögerte Wiedergabe	
Visuelle Paarerkennung II (2)		
Verbale Paarerkennung II (2)		
Visuelle Wiedergabe II (1)		

2.4.1 Die Untertests der WMS-R

2.4.1.1 Information und Orientierung

Neben Fragen zum Allgemeinwissen sowie Lese- und Hörverständnis wird die Orientierung des Probanden zu Zeit, Raum, Person und Situation erfasst. Hierdurch soll die Durchführbarkeit des Tests sowie die Interpretierbarkeit der Testergebnisse gewährleistet werden – die Antworten gehen jedoch nicht in die Bewertung der Gedächtnisleistung mit

ein. Erreicht der Proband in diesem Untertest nicht die volle Punktzahl, resultiert daraus der Studienausschluss. Die maximal erreichbare Punktzahl dieses Tests liegt bei 14 Punkten.

2.4.1.2 Mentale Kontrolle

Der Proband wird gebeten, drei Handlungsanweisungen (Rückwärtszählen, Aufsagen des Alphabets, schrittweise Subtraktion von 40) innerhalb eines vorgegebenen Zeitfensters auszuführen. Für jede vollständig richtig gelöste Aufgabe innerhalb der Zeitgrenze werden zwei Punkte vergeben, für jeden unterlaufenen Fehler ein Punkt abgezogen. Maximal können sechs Punkte erreicht werden.

2.4.1.3 Figurales Gedächtnis

Bei dieser Aufgabe soll der Proband nach kurzer Einprägungszeit vorgegebene Muster aus einer Reihe abweichender Muster wiedererkennen. Der Schwierigkeitsgrad ist dabei ansteigend: soll anfangs binnen fünf Sekunden lediglich ein Muster aus drei Angebotenen wiedererkannt werden, so sollen in den folgenden drei Durchgängen binnen 15 Sekunden drei verschiedene Muster aus einem Pool von neun Mustern korrekt benannt werden. Für jedes korrekt erkannte Muster wird ein Punkt vergeben, die Gesamtpunktzahl beträgt damit 10 Punkte.

2.4.1.4 Logisches Gedächtnis I (Textreproduktion I)

Dieser Untertest besteht aus zwei unterschiedlichen Geschichten, die dem Probanden zweimal nacheinander vorgelesen werden. Direkt im Anschluss sollen die Geschichten möglichst detailgenau wiedergegeben werden. Die Antworten werden wörtlich protokolliert und mit vorgegebenen Auswertungsrichtlinien abgeglichen. Der Proband wird darauf hingewiesen, dass eine erneute, verzögerte Abfrage der Geschichten in 30 Minuten erfolgt. Für jede Geschichte werden 25 Punkte, insgesamt also maximal 50 Punkte vergeben.

2.4.1.5 Visuelle Paarerkenntung I

Die visuelle Paarerkenntung I verlangt die Zuordnung von insgesamt sechs Strichfiguren zu je einer spezifischen Farbe. Für jedes Figuren-Farben-Paar stehen dem Probanden drei Sekunden Zeit zum Einprägen zur Verfügung. Im Anschluss soll binnen fünf Sekunden der gezeigten Strichfigur die entsprechende Farbe anhand einer Farbtafel zugeordnet werden. Unterlaufen dem Probanden Fehler oder verstreicht die Antwortzeit ungenutzt, zeigt der Interviewer die korrekte Lösung auf. Insgesamt werden minimal drei, bei Fehlern im dritten Durchgang bis maximal sechs solcher Durchgänge durchgeführt. Die gleichen Figur-Farbe-Paare werden 30 Minuten später erneut abgefragt, der Proband wird gebeten, sie in Erinnerung zu erhalten. Die drei ersten Durchgänge werden mit jeweils maximal

sechs Punkten bewertet, so dass sich eine mögliche Gesamtpunktzahl von 18 Punkten ergibt.

2.4.1.6 Verbale Paarererkennung I

Dem Probanden werden acht Wortpaare genannt, die er als zusammengehörig in Erinnerung behalten soll. Bei Nennung des jeweils ersten Wortes soll das dazugehörige zweite Wort genannt werden. Auch hier korrigiert der Interviewer bei falschen oder zu langsamen Wortnennungen. Es werden erneut insgesamt minimal drei, bei ungültiger Antwort maximal sechs Durchgänge durchgeführt. Der Proband wird gebeten, die Wortpaare zur späteren Verwendung in Erinnerung zu behalten. Für jeden gültigen Durchgang können maximal acht, insgesamt also 24 Punkte vergeben werden.

2.4.1.7 Visuelle Wiedergabe I

Dem Probanden werden vier Zeichnungen zunehmender Komplexität für jeweils 10 Sekunden vorgelegt mit der Aufforderung, sie direkt im Anschluss möglichst detailgetreu nachzuzeichnen. Es besteht keine zeitliche Begrenzung zum Lösen der Aufgabe. Fehler bzw. Ungenauigkeiten werden vom Interviewer nicht korrigiert. Der Proband wird darauf hingewiesen, dass auch diese Aufgabe nach 30 Minuten aus der Erinnerung heraus erneut durchgeführt werden soll. Die Auswertung erfolgt gemäß eines detaillierten Kriterienkatalogs im Anhang des Testmanuals. Maximal können 41 Punkte erreicht werden.

2.4.1.8 Zahlenspanne

Dieser Untertest ist unterteilt in „Zahlenspanne vorwärts“ und „Zahlenspanne rückwärts“. Der Proband wird angewiesen, vorgelesene Zahlenfolgen direkt (Zahlenspanne vorwärts) oder in umgekehrter Reihenfolge (Zahlenspanne rückwärts) wiederzugeben. Ein Durchgang besteht aus zwei Zahlenfolgen gleicher Länge, beginnend bei drei, endend bei acht konsekutiven Zahlen. Gibt der Proband beide Zahlenfolgen eines Durchganges korrekt wieder wird im nächsten Durchgang die Zahlenfolge um eins erhöht. Werden beide Folgen eines Durchganges falsch wiedergegeben endet der Test. Die maximal erreichbare Punktzahl beträgt 24 Punkte.

2.4.1.9 Blockspanne (Visuelle Merkspanne)

Wie die Zahlenspanne unterteilt sich auch die Blockspanne in die Unterkategorien „Blockspanne vorwärts“ und „Blockspanne rückwärts“. Analog zur Durchführung der Zahlenspanne sollen auch hier Folgen zunehmenden Schwierigkeitsgrades memoriert werden. Sie werden dem Probanden diesmal allerdings anhand eines Blockspannenbrettes mit unregelmäßig montierten Würfeln, die der Interviewer in einer bestimmten Reihenfolge antippt, angezeigt. Die richtige Würfelfolge soll im Anschluss entweder direkt oder in umgekehrter Reihenfolge nachgeahmt werden. Ein Durchgang besteht aus zwei Blockspannen gleicher Länge, beginnend bei zwei, endend bei acht in Folge angetippten

Würfeln. Gibt der Proband beide Blockspannen eines Durchganges korrekt wieder wird im nächsten Durchgang die Würfelanzahl um eins erhöht. Werden beide Folgen eines Durchganges falsch wiedergegeben endet der Test. Die maximal erreichbare Punktzahl beträgt erneut 24 Punkte.

2.4.1.10 Logisches Gedächtnis II (Verzögerte Textproduktion)

Zwischen der Durchführung von Logisches Gedächtnis I und II liegen zwingend 30 Minuten. Der Proband wird gebeten, die im Abschnitt „Logisches Gedächtnis I“ memorierten Geschichten erneut möglichst präzise wiederzugeben. Ist der Proband hierzu nicht in der Lage dürfen vorgegebene Hilfestellungen gegeben werden. Die Auswertung erfolgt analog zu „Logisches Gedächtnis I“ mit maximal 50 erreichbaren Punkten.

2.4.1.11 Visuelle Paarerkenkung II

Die aus „Visuelle Paarerkenkung I“ bekannten Figur-Farbe-Paare sollen erneut zugeordnet werden. Zur Beantwortung werden dem Probanden zehn Sekunden Zeit zugestanden. Es wird lediglich ein Durchgang durchgeführt, damit sind maximal sechs Punkte erreichbar.

2.4.1.12 Verbale Paarerkenkung II

Die aus „Verbale Paarerkenkung I“ bekannten Wortpaare sollen rekapituliert werden. Zur Beantwortung stehen zehn Sekunden pro Wortpaar zur Verfügung, es wird ein Durchgang durchgeführt. Es können acht Punkte erreicht werden.

2.4.1.13 Visuelle Wiedergabe II

Die aus „Visuelle Wiedergabe I“ bekannten Figuren sollen in beliebiger Reihenfolge reproduziert werden. Erneut besteht hierbei kein Zeitlimit. Hilfestellungen jedweder Art sind nicht erlaubt. Die Auswertung erfolgt analog „Visuelle Wiedergabe I“ anhand des Testmanuals. Die maximal erreichbare Punktzahl beträgt 41.

2.4.2 Auswertung der WMS-R

Die im Handbuch der WMS-R (Härting et al. 2000) für die jeweiligen Untertests angegebenen Mittelwerte und Standardabweichungen sind für Probanden zwischen 15 und 74 Jahren normiert. Hierzu wurden unter Berücksichtigung von Geschlechts- und Bildungskriterien aus einer quotierten Stichprobe (Friedrichs 1985, Schnell et al. 2008) von 210 Probanden sieben Altersgruppen zu je 30 Probanden gebildet. Zur repräsentativen Datenerhebung erfolgte die Schichtung der Stichprobe mit Hilfe demographischer Daten des statistischen Jahrbuchs der Bundesrepublik Deutschland von 1995. Aus den erhobenen Daten ließen sich Mittelwerte und Standardabweichungen für die entsprechenden Untertests und Leistungsaspekte berechnen.

Zur Auswertung der individuellen Testergebnisse der Studienteilnehmer wurden die Rohwerte der Untertests mit den zugehörigen Gewichtungsfaktoren multipliziert, die errechneten Summenwerte entsprechend der Altersgruppe mittels einer Tabelle in Indizes umgewandelt, den entsprechenden Leistungsaspekten zugeordnet und dergestalt in einen Normwert transformiert (s. *Tabelle 2*, Seite 28).

Im Anschluss wurden die WMS-R Unterskalen mit den Faktoren Genotyp bzw. Allel, Geschlecht und Zugehörigkeit zu Kontroll- oder Patientenkollektiv integriert und für die Kovariaten Alter und Schulbildung kontrolliert.

2.4.2.1 Einfluss demographischer Variablen auf die WMS-R

Zur Normierung der Skalen wurden Summenrohwerte der Probanden mittels univarianter Varianzanalysen (ANOVA) auf Geschlechts-, Alters- und Bildungsunterschiede hin überprüft (Härting et al. 2000).

Während sich die Ergebnisse hinsichtlich des Geschlechts nicht signifikant unterschieden konnte für jede Unterskala im univarianten F-Test ein signifikanter Alters- wie auch Bildungseffekt belegt werden (s. *Tabelle 3*). Die Unterteilung in Alters- und Bildungsgruppen bei der Normierung ist damit gerechtfertigt.

Tabelle 3: F-Werte der ANOVA der einzelnen Summenrohwerte (nach Härting et al., 2000)

Skalenwerte	Altersgruppe	Schulabschluss	Geschlecht
Verbales Gedächtnis	5,74**	23,60**	1,93
Visuelles Gedächtnis	10,52**	42,00**	2,1
Allgemeines Gedächtnis	8,87**	39,99**	2,56
Aufmerksamkeit / Konzentration	3,68*	46,93**	1,81
Verzögertes Gedächtnis	11,93**	47,66**	2,07

*, $p < 0,01$, **, $p < 0,001$

2.4.3 Statistische Eigenschaften der WMS-R

2.4.3.1 Reliabilität

Die Stabilitätskoeffizienten der Untertests in der Normierungsstichprobe wurden mittels Retest-Untersuchungen mit 40 Probanden aller Altersgruppen berechnet. Es ergaben sich für Untertests und Leistungsaspekte Werte zwischen 0,42 und 0,88 mit einem Mittelwert von 0,78. Die Reliabilität der Indizes ist $> 0,8$.

2.4.3.2 Validität

Untersuchungen an Patienten mit Depression und beginnender Demenz (Härting et al. 1999) ergaben eine Abweichung des Gesamtscores bei Demenzpatienten um drei Standardabweichungen, bei Patienten mit kognitiven Einschränkungen aufgrund einer Depression von lediglich einer Standardabweichung vom Mittelwert – eine Abgrenzung von Demenz und Pseudodemenz ist somit möglich.

2.5 Laborverfahren

2.5.1 DNA Extraktion

Venöses Blut der Testteilnehmer wurde entnommen, mit anonymisierten Strichcodes versehen und in EDTA Monovetten bei -80°C konserviert. Die Aufbereitung der Blutproben erfolgte durch Mitarbeiter der Arbeitsgruppe Prof. Rujescu der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Die Extraktion der genomischen DNA erfolgte gemäß des Handbuchs des *QiaAmp DNA Blood Maxi Kits* (Qiagen. 2005).

2.5.1.1 Vorbereitung und Zelllyse

Das tiefgefrorene EDTA-Blut wurde bei Raumtemperatur aufgetaut. Bei zu geringem Volumen wurde die Probe bis zu einem Zielvolumen von 10 ml mit *phosphate buffered saline* (PBS)-Pufferlösung verdünnt.

Zur Lyse enthaltener Leukozyten wurde 500µl Qiagen Protease sowie 12 ml Guanidin-HCl-haltiger AL-Puffers hinzugefügt und die DNA nach Entzug der Hydrathülle durch Zugabe von Ethanol ausgefällt. Zur Homogenisierung des Lysats und Maximierung des DNA-Ertrages erfolgte ein erneutes, zweiminütiges Vortexen gefolgt von einer 30-minütigen Inkubation im Wasserbad bei 70°C unter kontinuierlichem Schütteln (s. *Abbildung 1*).

2.5.1.2 Adsorption an die Silikagel-Säule

Zur Fällung der DNA wurden 10 ml Ethanol (96-100%) zur Probe hinzugefügt und das Lysat nach zweiminütiger Durchmischung im Vortexer auf das Silikagel übertragen. Zur Initiation der DNA-Adsorption wurde die Lösung für drei Minuten bei 3000 Umdrehungen pro Minute (rpm) zentrifugiert. Die im Lysat herrschenden pH- und Salzbedingungen ermöglichten hierbei eine selektive Bindung der DNA an das Silikagel. RNA und Nukleinsäure-bindende Proteine blieben ungebunden (s. *Abbildung 1*).

2.5.1.3 Reinigung

Zum Reinigen der Silikagel-Säule erfolgten zwei Waschdurchgänge. Zunächst wurden Verunreinigungen durch nicht-gebundene RNA- bzw. Proteinreste mittels Zugabe von 5ml Guanidin-HCl-haltigem Puffers (AW 1) ausgewaschen; entstandene Guanidiums Salze daraufhin in einem zweiten Schritt durch 5 ml ethanolhaltigen Puffers (AW 2) entfernt. Die Waschvorgänge erfolgten in der Zentrifuge bei 5000 rpm für eine bzw. fünf Minuten (s. *Abbildung 1*).

2.5.1.4 Elution von der Silikagel-Säule

Zur Elution der DNA von der Silikagel-Säule wurde der pH-Wert der Probe durch Zugabe von 1 ml AE-Puffer (Tris-Puffer, pH > 9) angehoben. Nach fünfminütiger Inkubation bei Raumtemperatur und anschließender fünfminütiger Zentrifugation bei 5000 rpm konnte die aufbereitete DNA zur PCR eingesetzt werden. Nicht benötigte DNA wurde erneut bei -80°C konserviert (s. *Abbildung 1*).

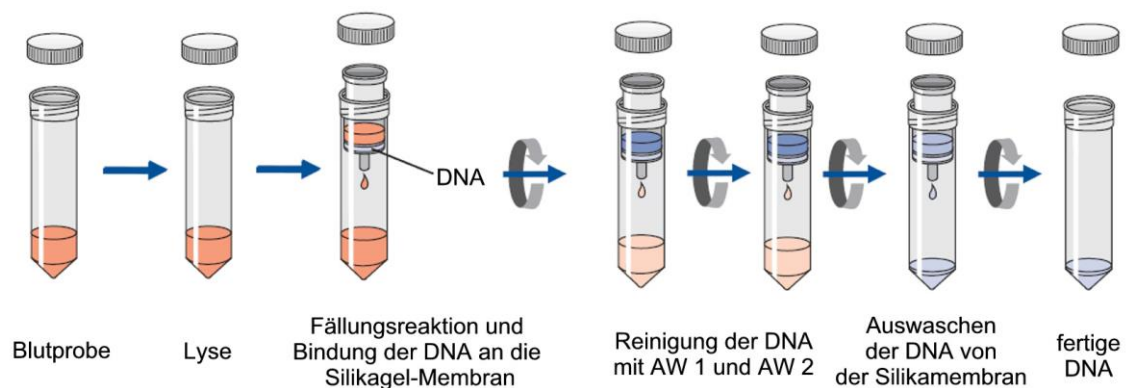


Abbildung 1: DNA-Extraktion gemäß Handlungsanleitung des QiaAmp™ DNA Midi/Maxi Kit Handbook (Second Edition, Januar 2005)

2.5.2 DNA Konzentrationsmessung

Die DNA-Quantifizierung wurde mittels eines hochselektiven DNA-Fluoreszenzfarbstoffs (PicoGreen) und eines Fluoreszenzlesers durchgeführt.

Der Farbstoff bindet ausschließlich an doppelsträngige DNA; die Intensität der resultierenden Fluoreszenz hängt dabei direkt von der Menge der in der Probe enthaltenen DNA ab (Invitrogen, 2008). Die Berechnung der DNA-Konzentration erfolgte anhand einer Eichkurve aus genomischer DNA (gDNA) bekannter Konzentration.

2.5.2.1 Verdünnungsreihe

Die gDNA-Standard Verdünnungsreihe wurde durch Verdünnen einer definierten Menge humaner gDNA bekannter Konzentration (*Human Genomic DNA*, Clontech) mit bidestilliertem Wasser im Verhältnis 1:1 erstellt. Hierbei wurde die gDNA Konzentration in sechs Schritten von 100 ng/µl auf 1,56 ng/µl verdünnt.

Anschließend wurde die Probanden-DNA-Stammlösung im Verhältnis 1:10 vorverdünnt, um eine im Messbereich liegende Konzentration zu erhalten. Ein Pipettier-Roboter (*Janus Automated Workstation*, Perkin Elmer) pipettierte dazu auf eine ABgene 96 well Platte je Probe 5 µl Probanden-DNA und 45 µl bidestilliertes Wasser.

2.5.2.2 Herstellung des PicoGreen Gemisches

Die gefrorene PicoGreen-Fluoreszenzreagenz (*PicoGreen dsDNA, quantitation reagent*, Molecular Probes) wurde etwa eine Stunde bei Raumtemperatur in einem lichtundurchlässigen Behälter aufgetaut und anschließend mit bidestilliertem Wasser auf eine Endverdünnung von 1:200 in der Probe titriert.

2.5.2.3 Messung

Auf eine Messplatte (*96 well flat bottom plate, black*, Greiner) wurden in den Spalten 1 und 2 in Duplikaten pro well je 5 µl der Standard-DNA-Verdünnungsreihe pipettiert. Ab Spalte 3 wurde die vorverdünnte Probanden-DNA ebenfalls in Duplikaten mit einem Volumen von 5 µl pipettiert. In jede Vertiefung der Messplatte (*well*) wurden daraufhin 145 µl des PicoGreen-Reagenz hinzugegeben.

Nach einer Reaktionszeit von 5-10 Minuten erfolgte die Messung der DNA-Konzentration im Fluoreszenzmessgerät (*Victor³ 1420 Multilabelcounter*, Perkin Elmer). Zur Bestimmung der Fluoreszenz wurde eine Anregungswellenlänge von 485 nm verwendet und die Lichtemission bei 535 nm gemessen. Die Messzeit pro well betrug dabei 0,1 Sekunden.

Die Messergebnisse wurden an einen Computer (*Optiplex GX620 Pentium 4 HT*, Dell) übertragen und die Mittelwerte der Doppelbestimmungen errechnet.

2.5.2.4 Erstellen der Arbeitslösung

Anhand des jeweiligen Konzentrationswertes errechnete sich die benötigte Menge destillierten Wassers, welche dem DNA-Volumen der Probanden-DNA-Ausgangslösungen hinzugefügt werden musste, um eine Anpassung der DNA-Konzentrationen auf 50 ng/µl vorzunehmen. Für jeden Probanden wurden 500 µl Arbeitslösung mit identischer Konzentration erstellt.

2.5.3 Genotypisierung

2.5.3.1 Allgemeiner Ablauf (iPLEX™ Assayverfahren und MALDI-TOF)

Die Genotypisierung der SNPs (*Tabelle 4*) wurde mittels iPLEX™-Reaktion (*increased Plexing Efficiency and Flexibility for MassARRAY® System through Single Base Primer Extension with Mass-Modified Terminators*, Sequenom) durchgeführt. Das Verfahren beruht auf der Bestimmung molekularer Massen allelspezifischer Primerextensionsprodukte und erlaubt eine Genotypisierung im Hochdurchsatz bei hoher Sensitivität (Sequenom. 2012).

Es werden dabei zwei Grundreaktionen differenziert: Zunächst wird eine konventionelle PCR der Region um den entsprechenden Polymorphismus durchgeführt. Anschließend erfolgt eine zweite PCR, bei der durch Einsatz spezifischer Extensionsprimer und eines Nukleotidterminationsmixes für jedes Allel ein massenspezifisches Primerextensionsprodukt erstellt wird.

Im Anschluss wird die molekulare Masse der Primerextensionsprodukte mit Hilfe des MALDI -TOF Massenspektrometers (*matrix assisted laser desorption/ionisation time off light mass spectrometry*, Sequenom) bestimmt und durch die *TYPER Analyzer 3.3.0 Software* (Sequenom) mit dem entsprechenden Genotyp korreliert (Oeth et al. 2005).

2.5.3.1.1 PCR

Die Primer, die zur Durchführung der *Polymerase Chain Reaktion* (PCR) die zu amplifizierenden Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs) flankieren sollen, werden mit Hilfe der *Spectrodesigner* Software der Firma Sequenom entworfen. Dabei gelten folgende Kompositionskriterien: Die Primer sollen mindestens 10 bp entfernt von dem entsprechenden SNP ansetzen, eine Mischung aller vier Basen sowie maximal vier Wiederholungen einer Base in Folge enthalten, nur einmal im Genom binden und nicht mit anderen Primern interagieren.

Die resultierenden Primersequenzen sind in *Tabelle 4* dargestellt.

Tabelle 4. CNTNAP2 Polymorphismen und ihre korrespondierenden Primersequenzen

SNP	1st PCR Primer	2nd PCR Primer	Extensionsprimer
rs9769600	GTGCTTGGCAGACTT-GCTTCC	GGGTCCAGTGAAACATT-GAGG	ccaagCAGCTTA-CACAGAAGTCT
rs9648691	GCTTATAGCTTGGCCTTGTC	GGACACTTGACTCTTCTTTC	CTCTACAGCCAGTGC
rs7794745	GACAGGTCAGGACCTG-GAAAG	GTTTCTGTAGTTT-GAGCAGCC	TGATTTTGACACTTAGTCT-TATCA
rs759178	GATACTCAGTTTCGCCCTACC	GTTAG-AAGAGTCCTGCCTGTC	TCCAACACTGAGTTTTCT
rs700281	GCAGAAGTGTAGACGAT-GGTG	GGCCTACCTGTTTAGTCTCC	cCTCCTATGCTTTATTCT-CATG

SNP	1st PCR Primer	2nd PCR Primer	Extensionsprimer
rs4726969	GTCATGTGCAAAGAGT-TATGG	GGAAAACCAATGATCA-GCTTG	TGATCAGCTTGTAGTTAGG
rs4596569	GATGGTCAGGTTCTAGT-GAG	GCTCTCTCTTCTGCCATTG	aatcgCTTTCTGCCATT-CGAAGAACACC
rs4526286	GAAAGCGAGTT-GGTGGCAAAG	GAGGATTAGTGTGG-GACATGG	ggggtAGGCCAAGAATCA-AAAGT
rs4431523	GGGCCAGCACCATCA-GATTTC	GATCTCTAGTGACCTT-CCAGC	TGTCA-AATTAAGAAAACTCT-TAG
rs3807570	GTGTGTTTGGGCAAAT-GATG	GGCTAGTCCCAT-TAGCTATTC	TATACTAATTCT-GATAACTCTAATGT
rs2710126	GGCCACCCAAAAATAT-GCTG	GCCCATTAATTCTCAAG-GACG	tttccCAAGGACGCCAACAC
rs2710117	GACAGGGACAGTTT-CAAGAC	GGCAGACATCCTACCT-GAAAT	CATCCTACCTGAAATTCATA-TAA
rs2710102	GATGGATGGACTGAC-CGATTG	GCAGCTGCCAGAGCCTT-TTG	CTTTTGTCTTCTCTTCTC
rs2710075	GGCTTTCACACAGATT-GCCC	GGCATACGTAAGTATA-TCTGC	TGTGTGTGTGTATGTG-TAAT
rs2708285	GGAAACTGGAATGCCAT-GTGC	GGAGTGAGGAGGAGTGT-GAAC	gggtTGTGAAGTGTGCAGAA
rs2707575	GATGGCAGTGGG-TACACAAAC	GACCAAAATAGAAGCAAACC	ggcatCAAAATAG-AAGCAAACCTGGCAA
rs2538991	GTAGGTCGGCAGTTAT-GTCTC	GCTTTGT-GAGCCTCTAGGCTG	cccaTCTAGGCTGTCAACATT
rs2538976	GTCTGGGTGGCATATTCA-AGG	GGACTTCTTGACAATG-GAACC	gaaAATGGAACCT-GAAGAAACAACTA
rs2040921	GCAGTACTGCCTGTCAT-GAAC	GATGCGT-TATCCAGAAGCTCC	CTCCGTGCTCACAAC
rs1543265	GCAGATGGTTACCAAAG-TAAGG	GGGTCATCCCTTCG-TACATTG	cAGTACAGCAGAGTCCA
rs1390718	GGCACCATGGATTACAT-GCAC	GGGGATTTAACT-TAGCAGTGTG	ccgtcGTTCTTTTCA-CAAATACAGTC
rs1260124	GTTCTACTCCAAGGCACT-CAC	GGTGATTGCAT-GAAGCACTGG	aAGGAATTTTCA-ATAGGTTAAAAAAA
rs12540404	GTGATAGCTGACGACAAC-CTG	GAATCTCCCACTT-GAGAGACC	cgcgCCCTAAGCCCTAAGTCTCTTT
rs11768363	GCCATTTTGTGTTTTGTCAG	GAGGTCTCTCA-TAACAGTGCC	ACTTCATAAATCTG-GAAGAGA
rs11766238	GCAAAGAAGACACACAAGG-GC	GTGAGGTGGTGTCTCATT-GTG	gTCCCTGATGACTAGTGA
rs10240503	GAGGAGGAAGGAT-GCTGGTTT	GTGACGGTCAG-TATCTCCAAC	aTGGCAGGTGATCTTTGTA
rs10234219	GTAGGTCACTCAAGT-TAGTGG	GACTG-GAGAAGAAAACTAGGC	ggccGTTGCAATGTACTG-TAACAA
rs10226360	GCAGAGTTGTGGGATATT-TGC	GGAATAACTATTGCATCA-GTCC	cccctCATCAGTCTCTGCTG
rs10215248	GGGCAATTTACTGTAAATG-GAC	GCGCATCCTGAAGAGTT-TGG	GTTTGGTTTATATAGTCTT-TAGATTAT

Massentag der 1st und 2nd PCR Primer: ACGTTGGAT

Die PCR wird im Anschluss als Multiplex-PCR adaptiert nach dem Schema der *Sequenom iPLEX™ Application Note* durchgeführt (Sequenom, 2012). Hierbei werden die in *Tabelle 5* gezeigten Reagenzien verwendet. Nach durchgeführter PCR werden die Proben auf 4°C gekühlt und gelagert.

Tabelle 5: Materialienliste initiale PCR

Reagenzien	Volumen pro Reaktion	Hersteller
Primer Mix (jeweils 500nM)	1,000 µl	Qiagen
DNA (5-10ng / µl)	1,000 µl	
Hotstar Tay (5 U / µl)	0,100 µl	Qiagen
dNTP Mix (25 mM)	0,100 µl	ABgene
Puffer mit MgCl ₂	0,625 ml	Qiagen
MgCl ₂ (25 mM)	0,325 µl	Qiagen
H ₂ O (autoklaviert)	1,850 µl	Purelab ultra, ELGA

2.5.3.1.2 Dephosphorylierung

Um Störungen der Extensionsreaktion durch dNTPs vorzubeugen müssen die bei der initialen PCR nicht eingebauten Nukleotide inaktiviert werden. Hierzu werden überzählige Nukleotide durch Zugabe eines *Shrimp Alkaline Phosphatase* (SAP) Cocktails, bestehend aus 1,53 µl autoclaviertem Wasser, 0,17 µl SAP-Puffer (10x) sowie 0,3 µl SAP-Enzym (1U / µl), sowohl am 5'- als auch am 3'-Ende dephosphoryliert und die SAP im Anschluss durch Inkubation bei 85°C für 10 Minuten inaktiviert.

2.5.3.1.3 iPLEX™(Extensions)reaktion

Während der sich nun anschließenden iPLEX™ -Reaktion wird für jedes Allel eines SNPs ein massenspezifisches Primerextensionsprodukt erzeugt. Der Extensionsprimer wird hierfür so gewählt, dass er direkt neben dem zu betrachtenden SNP zu liegen kommt. Seine Sequenz zeigt *Tabelle 4*.

Die PCR der Extensionsreaktion wird in Gegenwart einer definierten Mischung aus massenmodifizierten Didesoxynukleotiden (ddNTP) durchgeführt. Diese besitzen am 3'-Ende keine Hydroxylgruppe und können so nach ihrem Einbau an den Extensionsprimer nicht weiter verlängert werden (Terminatoren). Dieser Terminationsmix bedingt einen Strangbruch an den gesuchten SNPs und verlängert den Primer um jeweils ein massenmodifiziertes Terminationsnukleotid. Abhängig von der vorliegenden Variante des SNPs werden Extensionsprodukte verschiedener Länge und Molekülmasse erzeugt (Kuppuswamy et al. 1991). Die benutzten Reagenzien sind in *Tabelle 6* dargestellt.

Tabelle 6: iPLEX™-Reaktion - Materialbedarf

Reagenzien	Volumen	Hersteller
iPLEX Puffer 10x	0,200 µl	Sequenom
iPLEX Abbruch-Mix	0,200 µl	Sequenom
iPLEX Enzyme	0,041 µl	Sequenom
Primer Mix (7 µM:14 µM)	0,800 µl	Sequenom
H ₂ O (autoklaviert)	0,755 µl	Sequenom

Die PCR erfolgt im Thermocycler. Es werden zwei Schleifen durchlaufen. Initial wird die Probe einmalig bei 94°C für 30s denaturiert (1), hierauf folgen 40 Zyklen Denaturierung bei 94°C für 5s (2), Annealing der Extensionsprimer bei 52°C für 5s (3) und Extension des Primers um ein Didesoxynukleotid bei 80°C für 5 Sekunden (4) wobei Annealing (3) und Extension (4) pro Zyklus fünfmal wiederholt werden. Abschließend erfolgt eine finale Extension bei 72°C für 3 Minuten woraufhin die Probe auf 4°C abgekühlt wird. Insgesamt werden 200 Wiederholungen des Annealing / Extensions Prozesses durchlaufen (s. *Abbildung 2*).

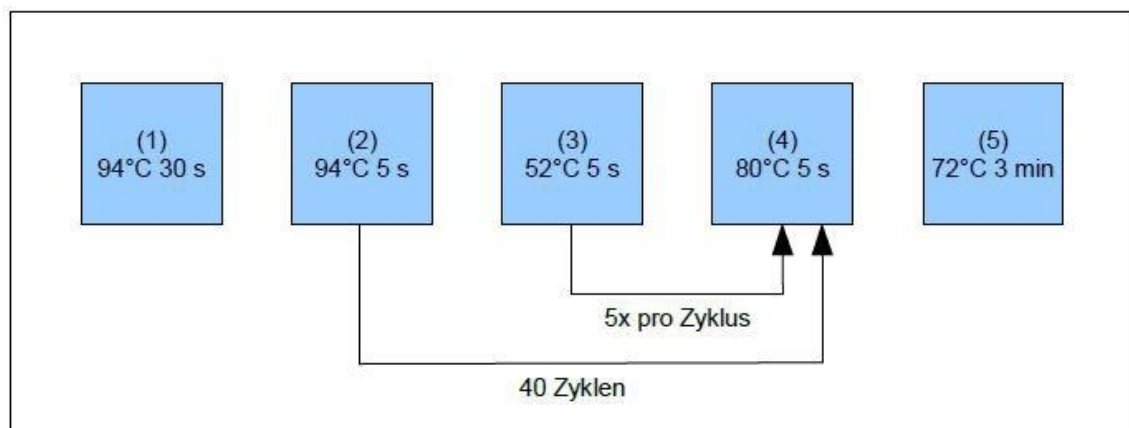


Abbildung 2: iPLEX™ Reaktion im Thermocycler. Annealing (3) und Extension (4) werden insgesamt 200-fach durchlaufen.

Um Störungen durch Ionen während der Massenspektrometrie zu vermeiden werden die Proben nach Abschluss der PCR mittels eines Ionenaustauscherharzes (*SpectroClean*, Sequenom) entsalzt und die Extensionsprodukte in Ammoniumhydroxid gelöst.

2.5.3.2 MALDI - TOF Massenspektrometrie

Das *matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight* (MALDI-TOF) ist ein massenspektrometrisches Verfahren, welches die matrix-gestützten Laserdesorption/ -ionisation (Schurenberg et al. 1999) mit einem Flugzeitanalysator (Go et al. 2003) koppelt. Es dient der Massenanalyse chemischer Verbindungen. Die Matrix zu untersuchender

Proben wird mittels Laserbeschuss verdampft (Desorption), die eingebetteten Probenmoleküle ionisiert (Ionisation), in einem elektrischen Feld beschleunigt und von einem Detektor aufgefangen (Go et al. 2003). Die Molekülgeschwindigkeit hierbei verhält sich umgekehrt proportional zum Massen-Ladungs-Quotienten, d.h. Moleküle mit hoher Masse und niedriger Ladung bewegen sich langsamer, Moleküle mit niedriger Masse und hoher Ladung schneller.

Es gilt der Zusammenhang $\text{tof} \propto \sqrt{\frac{m}{z}}$, wobei tof der Flugzeit (*time of flight*), m der Masse und z der Ladungszahl des Moleküls entspricht (Lehmann 1996).

Um die Allele der SNPs besser differenzieren zu können, werden die bei der iPLEX™ Extensionsreaktion benutzten Didesoxynukleotide (ddNTPs) in ihrer Masse dergestalt modifiziert, dass zwischen den einzelnen Allelen mindestens ein Massenunterschied von 15 Dalton (Da) liegt (Fei et al. 1998). Die im MALDI-TOF-Massenspektrometer erhobenen Werte lassen sich auf diese Weise eindeutiger interpretieren. *Tabelle 7* zeigt die Massenunterschiede der Terminationsnukleotide (ddNTPs).

Tabelle 7: Massenunterschiede verwendeter ddNTPs

ddNTP	A	C	G	T
A	0	-24	16	55,9
C	24	0	40	79,9
G	-16	-40	0	39,9
T	-55,9	-79,9	-39,9	0

Für die vorliegende Studie wurden 15 nl des Probengemisches mit Hilfe des *MassARRAY Nanodispensers* (Sequenom) auf einen mit 3-Hydroxypicolinsäure-Matrix (3-HPA) beladenen Siliziumchip (*SpectroCHIP®bioarray*, Sequenom) dispensiert und die MALDI-TOF durchgeführt (s. *Abbildung 3*). Die Massenspektren wurden digitalisiert und mittels der *TYPER Analyzer 3.3.0 Software* (Sequenom) anhand charakteristischer Flugzeiten analysiert.

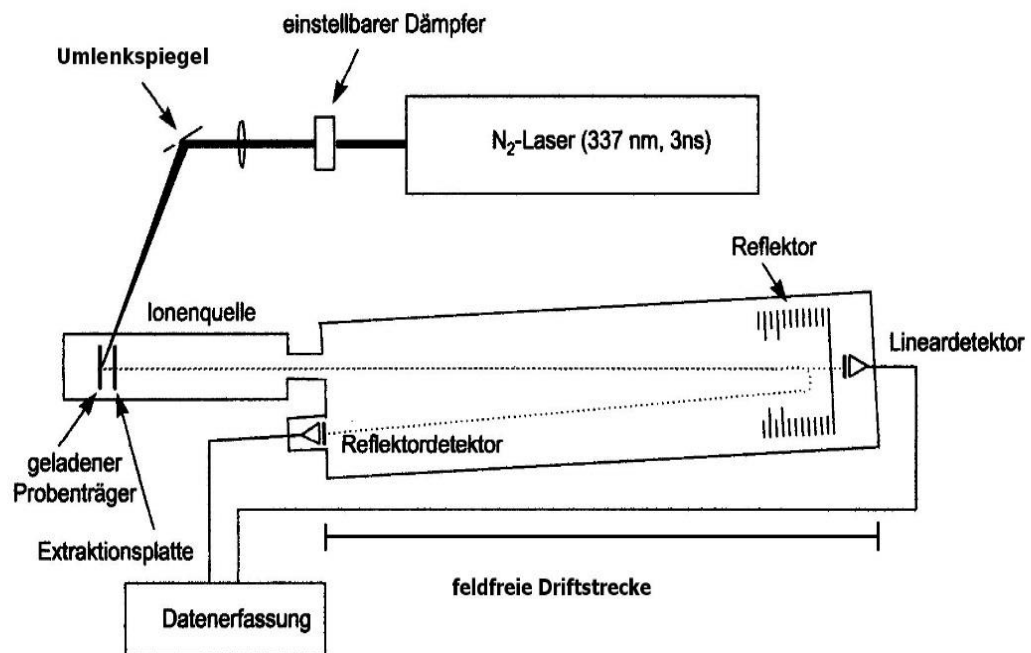


Abbildung 3: Schematischer Aufbau des MALDI-TOF-MS. (Abbildung nach Schurenberg et al., 1999)

Hierdurch konnten unterschiedliche Genotypen bestimmt werden: Homozygote Genotypen erzeugen dabei ein, heterozygote Genotypen zwei spezifische Massensignale (Haff & Smirnov 1997, Böcker 2003, Stanssens et al. 2004).

2.6 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Allel- und Genotypenverteilung der SNPs sowie der Haplotypanalyse erfolgte mittels IBM SPSS Statistics 19 (IBM Corporation 2010), PLINK (Purcell et al. 2007), R Version 2.13.0 (R Development Core Team 2011) und Haploview (Barrett et al. 2005).

Die statistische Auswertung der WMS-R erfolgte mittels linearer Regression.

Die Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollprobanden bezüglich der Häufigkeiten der Allele und Genotypen wurde mittels des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts getestet, der Fisher's Exact Test diente der Signifikanzprüfung.

Die Erstellung der Haplotyp-Abbildung wurde mittels der Haploview Software (Barrett et al. 2005) durchgeführt. Haplotyp Blöcke wurden nach der Methode von Gabriel

(Gabriel et al. 2002) bestimmt, die Berechnung erfolgte mit PLINK. Haplotyp Frequenzen zwischen Patienten und Kontrollen wurden mit Hilfe eines Chi Quadrat Tests verglichen. Es wurden lediglich Haplotypen mit einer Frequenz über 1% in die Analyse mitbezogen.

Für alle statistischen Berechnungen wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ festgelegt, während $p < 0,1$ als Trend gewertet wurde.

3 Ergebnisse

3.1 Stichprobenbeschreibung

Der Anteil weiblicher Probanden zeigt sich in der Kontrollgruppe mit 51,1% gegen 48,9% männlicher Probanden erhöht; im Patientenkollektiv mit 40,7% zu 59,3% erniedrigt. Zum Zeitpunkt der Testung war der jüngste Teilnehmer 18 Jahre, der älteste 74 Jahre alt. Das Durchschnittsalter innerhalb der Kontrollgruppe betrug dabei 50,7 Jahre (Standardabweichung: 13,70), innerhalb der Patientengruppe 38,4 Jahre (Standardabweichung: 10,93).

25,7% aller Studienteilnehmer hatten einen Hauptschulabschluss, 32,9% einen Real-
schulabschluss und 41,4% Abitur (*Tabelle 8*). Alter, Schulbildung und Geschlecht wurden als Kovariablen in die Berechnungen integriert.

Tabelle 8: Bildungs- und Geschlechtsverteilung der untersuchten Stichprobe

Gruppe	Geschlecht n (%)		Schulbildung n (%)			Gesamt n
	weiblich n (%)	männlich n (%)	niedrig n (%)	mittel n (%)	hoch n (%)	
Kontrollen	257 (51,1)	246 (48,9)	97 (19,3)	186 (37,0)	220 (43,7)	503
Patienten	142 (40,7)	207 (59,3)	122 (34,9)	94 (26,9)	133 (38,2)	349
Gesamt n (%)	399 (46,8)	453 (53,2)	219 (25,7)	280 (32,9)	353 (41,4)	852

n = Anzahl

Für den Nachweis einer Assoziation genetischer Polymorphismen des CNTNAP2 Gens mit kognitiven Phänotypen bei einem Kollektiv aus an Schizophrenie erkrankten Patienten und Gesunden wurde in vorliegender Studie für 349 schizophrene Patienten und 503 Kontrollen eine Genotypisierung sowie die WMS-R durchgeführt.

Im Rahmen einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie wurde obiges Studienkollektiv zusätzlich auf Assoziationen zwischen SNPs des CNTNAP2 Gens und Schizophrenie hin untersucht. Zu diesem Zweck wurden unten aufgeführte SNPs genotypisiert und einer statistischen Analyse bezüglich ihrer Genotypen- und Allelfrequenz unterzogen. Die Genotypenverteilung der vorliegenden Studienpopulation befindet sich im Hardy-Weinberg-Equilibrium (*s. Tabelle 9*).

Tabelle 9: HWE der 29 Polymorphismen des CNTNAP2-Gens auf Chromosom 7

SNP	Position	Allele		Genotypanzahl			HWE	
		A1	A2	A1A1	A1A2	A2A2	F	p- Wert
rs1260124	145810125	A	T	174	404	268	0,033	0,331
rs700281	146192877	C	T	177	445	223	-0,056	0,113
rs11766238	146245685	C	T	230	417	201	0,015	0,680
rs10234219	146311852	A	T	254	427	160	-0,028	0,443
rs7794745	146489606	A	T	338	390	118	0,011	0,768
rs4596569	146577441	A	G	259	430	146	-0,049	0,180
rs3807570	146826061	C	T	165	411	248	-0,008	0,888
rs1390718	146855556	A	G	267	416	161	-0,002	1,000
rs9769600	146954397	A	G	250	420	181	0,006	0,890
rs10226360	147206439	A	C	194	438	215	-0,035	0,336
rs1543265	147408493	C	T	349	399	103	-0,023	0,549
rs11768363	147419683	C	T	334	396	107	-0,021	0,601
rs2710102	147574390	C	T	204	422	219	0,001	1,000
rs759178	147575112	G	T	205	423	220	0,002	0,945
rs2538991	147579619	G	T	209	420	221	0,012	0,732
rs2538976	147585819	A	G	224	420	200	0,004	0,945
rs4431523	147597166	C	T	87	351	411	0,032	0,377
rs2710117	147601772	A	T	350	381	115	0,024	0,502
rs2707575	147638723	A	G	200	422	225	0,003	0,945
rs2708285	147663965	A	G	158	432	259	-0,032	0,366
rs10240503	147674978	A	G	658	177	11	-0,008	1,000
rs2710075	147691102	C	T	216	426	203	-0,009	0,837
rs2710126	147753897	A	G	268	420	158	-0,010	0,834
rs2040921	147882266	A	T	199	408	243	0,037	0,272
rs4526286	147907326	A	G	232	417	189	0,002	0,945
rs12540404	147974505	C	T	141	417	283	-0,021	0,571
rs4726969	148090235	A	T	325	408	115	-0,025	0,510
rs10215248	148103987	C	T	94	391	346	-0,036	0,321
rs9648691	148106490	A	G	280	407	150	0,003	0,944

A1 = Allel 1, A2 = Allel 2, HWE = Hardy – Weinberg- Gleichgewicht, SNP = Single Nukleotid Polymorphismus

3.2 Beschreibung der Polymorphismen

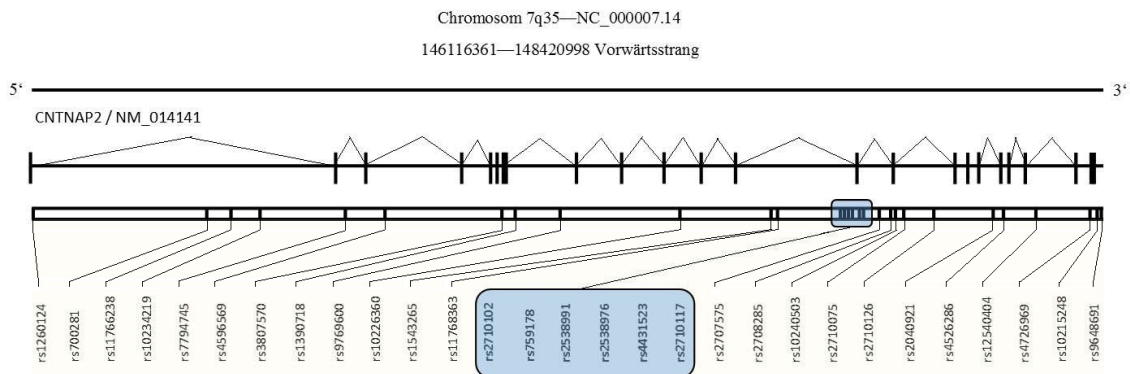


Abbildung 4: Struktur des CNTNAP2 Gens; blau umrandet signifikante SNPs der Genregion zwischen Exon 13 und Exon 15

Von den 29 untersuchten Polymorphismen des CNTNAP2 Gens auf Chromosom 7 war ein SNP in der 5'- Genregion, drei SNPs am 3'-Ende des Gens, insgesamt 27 SNPs in Introns sowie zwei SNPs in Exons (Exon 15 und 23) lokalisiert (Abbildung 4).

Aufschluss über die genaue Lokalisation und Funktion der untersuchten SNPs in 5' – 3' Richtung gibt Tabelle 10.

Tabelle 10: Lokalisierung und Funktion der untersuchten CNTNAP2 SNPs

SNPs 5' - 3' auf CNTNAP2	Funktion	Position
rs1260124	3kb Strang aufwärts, mögliche Promotorregion	7:146113033
rs700281	Intronvariante (Intron 1)	7:146495785
rs11766238	Intronvariante (Intron 1)	7:146548593
rs10234219	Intronvariante (Intron 1)	7:146614760
rs7794745	Intronvariante (Intron 2)	7:146792514
rs4596569	Intronvariante (Intron 3)	7:146880349
rs3807570	Intronvariante (Intron 6)	7:147128969
rs1390718	Intronvariante (Intron 8)	7:147158464
rs9769600	Intronvariante (Intron 8)	7:147257305
rs10226360	Intronvariante (Intron 11)	7:147509347
rs1543265	Intronvariante (Intron 13)	7:147711401
rs11768363	Intronvariante (Intron 13)	7:147722591
rs2710102	Intronvariante (Intron 13)	7:147877298
rs759178	Intronvariante (Intron 13)	7:147878020
rs2538991	Intronvariante (Intron 13)	7:147882527
rs2538976	Intronvariante (Intron 13)	7:147888727
rs4431523	Intronvariante (Intron 13)	7:147900074

SNPs 5' - 3' auf CNTNAP2	Funktion	Position
rs2710117	Intronvariante (Intron 14)	7:147904680
rs2707575	Intronvariante (Intron 14)	7:147941631
rs2708285	Intronvariante (Intron 14)	7:147966873
rs10240503	synonymes Kodon (Exon 15)	7:147977886
rs2710075	Intronvariante (Intron 15)	7:147994010
rs2710126	Intronvariante (Intron 15)	7:148056805
rs2040921	Intronvariante (Intron 18)	7:148185174
rs4526286	Intronvariante (Intron 18)	7:148210234
rs12540404	Intronvariante (Intron 21)	7:148277413
rs4726969	Intronvariante (Intron 22)	7:148393143
rs10215248	Intronvariante (Intron 22)	7:148406895
rs9648691	synonymes Kodon (Exon 23)	7:148409398

3.3 Fall-Kontroll-Assoziationsstudie CNTNAP2 SNPs und Schizophrenie

Vorliegende CNTNAP2 SNPs wurden mittels Ermittlung und Analyse der Genotypen- und Allelverteilung – weiter differenziert in Gesamtallevverteilung sowie homozygote Allelträger im Vergleich zum restlichen Studienkollektiv - auf eine Assoziation mit Schizophrenie hin untersucht (siehe *Tabelle 11*).

Tabelle 11: Allel- und Genotypverteilung in den untersuchten CNTNAP2 SNPs

SNP	A1	A2	Allel (A1 vs A2)			Genotypen (A1A1 vs A1A2 vs A2A2)		
			Pat (n)	Kon (n)	p- Wert	Pat (n)	Kon (n)	p- Wert
rs1260124	A	T	311/381	441/559	0,732	69/173/104	105/231/164	0,576
rs700281	C	T	330/362	469/529	0,779	68/194/84	109/251/139	0,319
rs11766238	T	C	325/369	494/508	0,317	74/177/96	127/240/134	0,792
rs10234219	T	A	313/373	434/562	0,405	67/179/97	93/248/157	0,626
rs7794745	T	A	275/419	351/647	0,062	58/159/130	60/231/208	0,631
rs4596569	G	A	299/391	423/557	0,945	60/179/106	86/251/153	0,983
rs3807570	C	T	302/378	439/529	0,706	60/182/98	105/229/150	0,395
rs1390718	G	A	291/399	447/551	0,287	60/171/114	101/245/153	0,829
rs9769600	G	A	305/393	477/527	0,120	69/167/113	112/253/137	0,353
rs10226360	A	C	347/343	479/525	0,418	90/167/88	104/271/127	0,527
rs1543265	T	C	233/463	372/634	0,138	40/153/155	63/246/194	0,239
rs11768363	T	C	240/454	370/610	0,184	43/154/150	64/242/184	0,257
rs2710102	C	T	358/330	472/530	0,728	95/168/81	109/254/138	0,932
rs759178	G	T	359/333	474/530	0,712	95/169/82	110/254/138	0,939

SNP	A1	A2	Allel (A1 vs A2)			Genotypen (A1A1 vs A1A2 vs A2A2)		
			Pat (n)	Kon (n)	p- Wert	Pat (n)	Kon (n)	p- Wert
rs2538991	G	T	364/334	474/528	0,825	98/168/83	111/252/138	0,898
rs2538976	G	C	361/333	459/535	0,465	98/165/84	102/255/140	0,748
rs4431523	C	T	239/457	286/716	0,011	49/141/158	38/210/253	0,549
rs2710117	T	A	221/471	390/610	0,003	34/153/159	81/228/191	0,217
rs2707575	A	G	325/371	497/501	0,208	83/159/106	117/263/119	0,067
rs2708285	A	G	288/408	460/542	0,064	58/172/118	100/260/141	0,289
rs10240503	G	A	88/606	111/887	0,328	8/72/267	3/105/391	0,970
rs2710075	T	C	354/336	478/522	0,717	95/164/86	108/262/130	0,566
rs2710126	G	A	307/389	429/567	0,672	67/173/108	91/247/160	0,962
rs2040921	A	T	312/382	494/512	0,092	72/168/107	127/240/136	0,589
rs4526286	G	A	305/385	490/496	0,027	65/175/105	124/242/127	0,425
rs12540404	C	T	285/407	414/576	0,795	53/179/114	88/238/169	0,728
rs4726969	T	A	248/446	390/612	0,183	35/178/134	80/230/191	0,535
rs10215248	C	T	211/465	368/618	0,010	28/155/155	66/236/191	0,271
rs9648691	G	A	313/373	394/594	0,019	69/175/99	81/232/181	0,114

Pat = schizophrene Patienten, Kon = Kontrollen, n= Anzahl, A1 = Allel 1 (selteneres Allel), A2 = Allel 2 (häufigeres Allel), Grün hinterlegte Felder = signifikante Assoziationen ($p < 0,05$)

Tabelle 12: Weitere Genotypverteilung in den untersuchten CNTNAP2 SNPs

SNP	A1	A2	dominant (A1A1 + A1A2 vs A2A2)			rezessiv (A1A1 vs A1A2 + A2A2)		
			Pat (n)	Kon (n)	p- Wert	Pat (n)	Kon (n)	p- Wert
rs1260124	A	T	242/104	336/164	0,399	69/277	105/395	0,708
rs700281	C	T	262/84	360/139	0,246	68/278	109/390	0,442
rs11766238	T	C	251/96	367/134	0,767	74/273	127/374	0,176
rs10234219	T	A	246/97	341/157	0,314	67/276	93/405	0,755
rs7794745	T	A	217/130	291/208	0,218	58/289	60/439	0,053
rs4596569	G	A	239/106	337/153	0,878	60/285	86/404	0,952
rs3807570	C	T	242/98	334/150	0,504	60/280	105/379	0,153
rs1390718	G	A	231/114	346/153	0,464	60/285	101/398	0,300
rs9769600	G	A	236/113	365/137	0,109	69/280	112/390	0,373
rs10226360	A	C	255/90	375/127	0,796	88/257	104/398	0,102
rs1543265	T	C	193/155	309/194	0,082	40/308	63/440	0,650
rs11768363	T	C	249/95	306/184	0,003	81/263	64/426	0,001
rs2710102	C	T	251/95	363/138	0,977	82/264	109/392	0,506
rs759178	G	T	251/98	364/138	0,850	83/266	110/392	0,522
rs2538991	G	T	249/98	363/138	0,824	84/263	111/390	0,485
rs2538976	G	C	263/84	357/140	0,200	98/249	102/395	0,009
rs4431523	C	T	190/158	248/253	0,144	49/299	38/463	0,002

SNP	A1	A2	dominant (A1A1 + A1A2 vs A2A2)			rezessiv (A1A1 vs A1A2 + A2A2)		
			Pat (n)	Kon (n)	p- Wert	Pat (n)	Kon (n)	p- Wert
rs2710117	T	A	187/159	309/191	0,024	34/312	81/419	0,008
rs2707575	A	G	242/106	380/119	0,032	83/265	117/382	0,892
rs2708285	A	G	230/118	360/141	0,073	58/290	100/401	0,225
rs10240503	G	A	80/267	108/391	0,627	8/339	3/496	0,031
rs2710075	T	C	250/95	370/130	0,619	86/259	108/392	0,258
rs2710126	G	A	240/108	338/160	0,736	67/281	91/407	0,719
rs2040921	A	T	240/107	367/136	0,228	72/275	127/376	0,128
rs4526286	G	A	240/105	366/127	0,137	65/280	124/369	0,031
rs12540404	C	T	232/114	326/169	0,719	53/293	88/407	0,347
rs4726969	T	A	213/134	310/191	0,885	35/312	80/421	0,014
rs10215248	C	T	183/155	302/191	0,041	28/310	66/427	0,023
rs9648691	G	A	244/99	313/181	0,019	69/274	81/413	0,168

Pat = schizophrene Patienten, Kon = Kontrollen, n= Anzahl, A1 = Allel 1 (selteneres Allel), A2 = Allel 2 (häufigeres Allel), Grün hinterlegte Felder = signifikante Assoziationen ($p < 0,05$)

Dabei entsprechen die in *Tabelle 11* und *Tabelle 12* grün hinterlegten Felder signifikanten Assoziationen ($p < 0,05$) des entsprechenden Polymorphismus mit der Genotyp- oder (Gesamt-)Allelverteilung im Vergleich des Patienten- und Kontrollkollektivs.

Es konnten für 10 aus 29 Polymorphismen signifikante Assoziationen zur Schizophrenie belegt werden; am häufigsten assoziiert imponierten dabei die SNPs rs2710117 und rs10215248 mit je drei Assoziationen.

Eine Übersicht über die Häufigkeit der identifizierten Signifikanzen in Zusammenhang mit den entsprechenden SNPs gibt *Abbildung 5*.

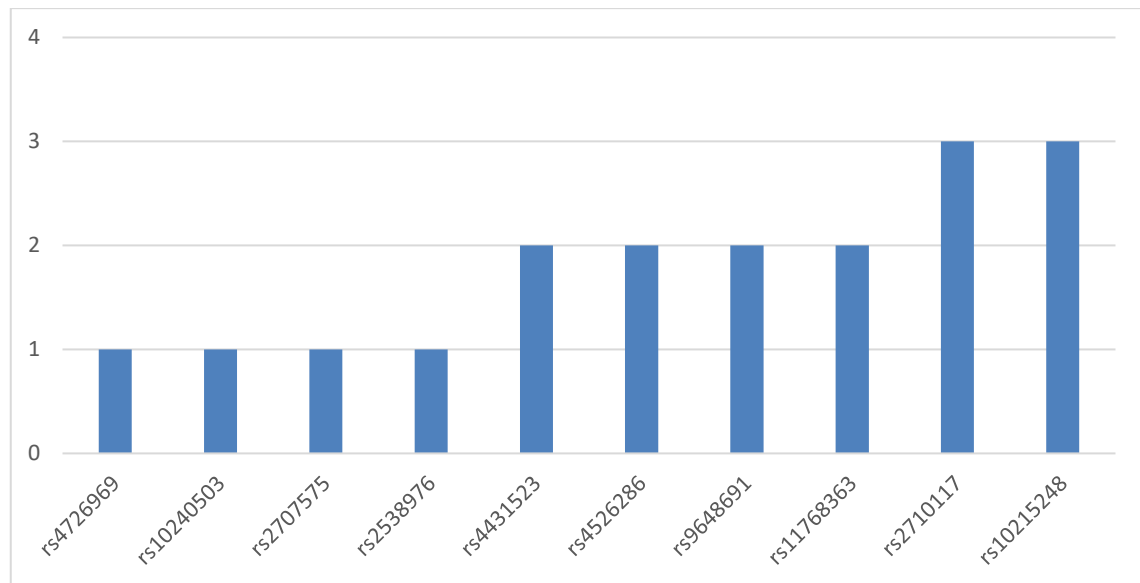


Abbildung 5: Häufigkeit der identifizierten Signifikanzen eines Polymorphismus in Genotyp- und Allelanalyse; y-Achse entspricht der absoluten Häufigkeit der Assoziation

Es konnte für die SNPs rs2710117, rs10215248, rs4526286, rs4726969 und rs2707575 eine Häufung des selteneren Allels (A1) bei den Kontrollen; für die SNPs rs4431523, rs9648691, rs11768363, rs2538976 sowie rs10240503 ein vermehrtes Auftreten des häufigeren Allels (A2) bei den Kontrollen in jeweils allen Untergruppen beobachtet werden. Für erstgenannte SNPs stellen sich somit die A2 Allele, für letztgenannte die A1 Allele der entsprechenden Polymorphismen als mögliche Schizophrenie Suszeptibilitätsloci dar.

3.4 Endophänotypenstudie und Assoziation der SNPs mit der WMS-R

Die Assoziation zwischen kognitiven Leistungen und den 29 in Tabelle 9 aufgeführten Polymorphismen des CNTNAP2-Gens wurde mittels linearer Regression sowohl für die Leistungsaspekte als auch die Subtests der WMS-R bestimmt.

Für 22 der untersuchten 29 Polymorphismen konnten Assoziationen zum Abschneiden in WMS-R Leistungsaspekten oder Subtests identifiziert werden (signifikante und als Trend wertbare Assoziationen aufgeschlüsselt nach Leistungsaspekt respektive Untertest siehe Tabelle 13 und Tabelle 14).

Für die SNPs rs10215248, rs10234219, rs12540404, rs1260124, rs1390718, rs2707575, rs2710075 konnte weder in WMS-R Leistungsaspekten noch Subtests eine Assoziation nachgewiesen werden.

Die Gesamthäufigkeit der identifizierten Assoziationen eines Polymorphismus gibt *Tabelle 15* wieder.

3.4.1 Assoziation mit den Leistungsaspekten der WMS-R

Für die SNPs rs11766238, rs2040921, rs2538976, rs2538991, rs2710102, rs3807570, rs759178 und rs9648691 ist das seltenere Allel jeweils mit schlechteren Leistungen in den entsprechenden Leistungsaspekten, für die SNPs rs11768363, rs2708285, rs2710117, rs2710126, rs4726969 und rs7794745 mit besseren Leistungen assoziiert (siehe *Tabelle 13*).

Der SNP rs10240503 ist für das seltenere Allel mit einem besseren Abschneiden im Leistungsaspekt Information / Orientierung, jedoch mit einem schlechteren Abschneiden im Leistungsaspekt Verbales Gedächtnis assoziiert (siehe *Tabelle 13*).

Die Probandenzahl betrug je nach Leistungsskala zwischen 824 und 850 Probanden.

Tabelle 13: Assoziation der SNPs des CNTNAP2 Gens mit Leistungsskalen der WMS-R

Leistungsaspekte	SNP	Effektallel	R	SE	p- Wert
Information / Orientierung	rs10240503	G	-0,092	0,043	0,033
	rs2040921	A	0,049	0,027	0,073
Allgemeines Gedächtnis	rs2538976	G	1,715	0,968	0,077
	rs2538991	G	1,698	0,966	0,079
	rs2710126	G	-1,921	0,987	0,052
	rs759178	G	1,759	0,972	0,071
	rs7794745	T	-1,727	1,008	0,087
Verbales Gedächtnis	rs10240503	G	2,091	1,183	0,078
	rs2538976	G	1,626	0,756	0,032
	rs2538991	G	1,629	0,755	0,031
	rs2710102	C	1,483	0,760	0,051
	rs2710126	G	-1,682	0,772	0,030
	rs759178	G	1,704	0,760	0,025
Visuelles Gedächtnis	rs11768363	T	-0,732	0,401	0,069
	rs4726969	T	-0,678	0,394	0,086
	rs9648691	G	0,882	0,388	0,023
Aufmerksamkeit	rs11766238	T	0,970	0,513	0,059
	rs2708285	A	-1,208	0,529	0,023
	rs2710117	T	-0,955	0,536	0,075
	rs3807570	C	1,178	0,527	0,026

Leistungsaspekte	SNP	Effektallel	R	SE	p- Wert
Verzögerte Wieder- gabe	rs2538976	G	1,219	0,669	0,069
	rs2538991	G	1,173	0,668	0,079
	rs2710102	C	1,137	0,674	0,092
	rs4726969	T	-1,189	0,701	0,090
	rs759178	G	1,205	0,672	0,073
	rs9648691	G	1,276	0,687	0,064

Grün hinterlegte Felder = signifikante Assoziationen ($p < 0,05$), Gelb hinterlegte Felder = Trend ($p < 0,1$), SE = Standardfehler, R = Regressionskoeffizient

3.4.2 Assoziation mit den Subtests der WMS-R

Für die SNPs rs10240503, rs11766238, rs2538976, rs2538976, rs2538991, rs2710102, rs3807570, rs4431523, rs4526286, rs759178 und rs9648691 ist das seltenere Allel jeweils mit schlechteren Leistungen in entsprechenden Subtests, für die SNPs rs10226360, rs1543265, rs2708285, rs2710117, rs2710126, rs4596569, rs700281, rs7794745 und rs9769600 mit besseren Leistungen assoziiert (siehe *Tabelle 14*).

Die Probandenzahl betrug je nach Subtest zwischen 822 und 849 Probanden.

Tabelle 14: Assoziation der SNPs des CNTNAP2 Gens mit Subtests der WMS-R

Subtests	SNP	Effektallel	R	SE	p- Wert
Blockspanne	rs11766238	T	0,267	0,143	0,061
	rs2708285	A	-0,324	0,147	0,028
	rs4526286	G	0,274	0,145	0,058
Zahlenspanne	rs2708285	A	-0,281	0,163	0,085
	rs2710117	T	-0,456	0,165	0,006
	rs3807570	C	0,306	0,162	0,059
Logisches Gedächtnis I	rs10240503	G	0,980	0,545	0,073
	rs2538976	G	0,737	0,348	0,034
	rs2538991	G	0,727	0,348	0,037
	rs2710102	C	0,654	0,350	0,062
	rs2710126	G	-0,790	0,354	0,026
	rs759178	G	0,756	0,350	0,031
Logisches Gedächtnis II	rs2538976	G	0,847	0,395	0,032
	rs2538991	G	0,815	0,394	0,039
	rs2710102	C	0,766	0,397	0,054
	rs759178	G	0,866	0,397	0,029
	rs9769600	G	-0,688	0,395	0,082
Mentale Kontrolle	rs3807570	C	0,088	0,051	0,084
Verbale Paarerkenntnis I	rs2538991	G	0,228	0,133	0,087

Subtests	SNP	Effektallel	R	SE	p- Wert
	rs2710102	C	0,227	0,134	0,092
	rs4431523	C	0,294	0,142	0,039
	rs4596569	G	-0,251	0,139	0,071
	rs759178	G	0,246	0,134	0,067
	rs7794745	T	-0,334	0,138	0,016
Verbale Paarerkenung II	rs10226360	A	-0,083	0,038	0,030
	rs3807570	C	0,089	0,039	0,022
	rs4526286	G	0,087	0,038	0,023
	rs4596569	G	-0,096	0,039	0,015
Visuelle Paarerkenung I	rs700281	C	-0,300	0,176	0,088
	rs7794745	T	-0,333	0,177	0,060
	rs9769600	G	-0,325	0,171	0,057
Visuelle Wiedergabe I	rs1543265	T	-0,497	0,268	0,064
	rs4726969	T	-0,606	0,263	0,022
	rs9648691	G	0,681	0,260	0,009
Visuelle Wiedergabe II	rs4726969	T	-0,680	0,345	0,049
	rs9648691	G	0,740	0,339	0,029

Grün hinterlegte Felder = signifikante Assoziationen ($p < 0,05$), Gelb hinterlegte Felder = Trend ($p < 0,1$), SE = Standardfehler, R = Regressionskoeffizient

3.4.3 Häufigkeit der Assoziationen eines Polymorphismus mit WMS-R Subtests und Leistungsskalen

Es wurde die kumulierte Häufigkeit der SNP-Assoziation zu sowohl Leistungsaspekten als auch Subtests der WMS-R bestimmt.

Die SNPs rs759178 und rs2538991 wiesen dabei mit sechs Assoziationen die höchste Anzahl an signifikanten Assoziationen respektive Trends auf, gefolgt von rs2710102 und rs2538976 mit je fünf Assoziationen (siehe *Tabelle 15*).

Einen Überblick über die Gesamthäufigkeit der Assoziationen eines SNP mit der Gedächtnisleistung in Leistungsaspekten und Subtests gibt *Abbildung 6*.

Die Reihenfolge der SNPs in Tabelle und Abbildung entspricht deren Anordnung in 5'-3' Richtung auf dem CNTNAP2 Gen.

Die Probandenzahl betrug je nach Subtest respektive Leistungsaspekt zwischen 822 und 850 Probanden.

Tabelle 15: Kumulierte Häufigkeit der identifizierten Assoziationen eines Polymorphismus mit WMS-R Subtests und Leistungsskalen; SNPs angeordnet in 5'-3' Richtung auf dem Gen

SNP	Effektallel	Phänotyp	R	SE	p- Wert
rs700281	C	Visuelle Paarererkennung I	-0,300	0,176	0,088
rs11766238	T	Blockspanne	0,267	0,143	0,061
	T	Aufmerksamkeit	0,970	0,513	0,059
rs7794745	T	Allgemeines Gedächtnis	-1,727	1,008	0,087
	T	Verbale Paarererkennung I	-0,334	0,138	0,016
	T	Visuelle Paarererkennung I	-0,333	0,177	0,060
rs4596569	G	Verbale Paarererkennung I	-0,251	0,139	0,071
	G	Verbale Paarererkennung II	-0,096	0,039	0,015
rs3807570	C	Mentale Kontrolle	0,088	0,051	0,084
	C	Aufmerksamkeit	1,178	0,527	0,026
	C	Verbale Paarererkennung II	0,089	0,039	0,022
	C	Zahlenspanne	0,306	0,162	0,059
rs9769600	G	Logisches Gedächtnis II	-0,688	0,395	0,082
	G	Visuelle Paarererkennung I	-0,325	0,171	0,057
rs10226360	A	Verbale Paarererkennung II	-0,083	0,038	0,030
rs1543265	T	Visuelle Wiedergabe I	-0,497	0,268	0,064
rs11768363	T	Visuelles Gedächtnis	-0,732	0,401	0,069
rs2710102	C	Logisches Gedächtnis I	0,654	0,350	0,062
	C	Logisches Gedächtnis II	0,766	0,397	0,054
	C	Verbales Gedächtnis	1,483	0,760	0,051
	C	Verzögerte Wiedergabe	1,137	0,674	0,092
	C	Verbale Paarererkennung I	0,227	0,134	0,092
rs759178	G	Logisches Gedächtnis I	0,756	0,350	0,031
	G	Logisches Gedächtnis II	0,866	0,397	0,029
	G	Allgemeines Gedächtnis	1,759	0,972	0,071
	G	Verbales Gedächtnis	1,704	0,760	0,025
	G	Verzögerte Wiedergabe	1,205	0,672	0,073
	G	Verbale Paarererkennung I	0,246	0,134	0,067
rs2538991	G	Logisches Gedächtnis I	0,727	0,348	0,037
	G	Logisches Gedächtnis II	0,815	0,394	0,039
	G	Allgemeines Gedächtnis	1,698	0,966	0,079
	G	Verbales Gedächtnis	1,629	0,755	0,031
	G	Verzögerte Wiedergabe	1,173	0,668	0,079
	G	Verbale Paarererkennung I	0,228	0,133	0,087
rs2538976	G	Logisches Gedächtnis I	0,737	0,348	0,034
	G	Logisches Gedächtnis II	0,847	0,395	0,032
	G	Allgemeines Gedächtnis	1,715	0,968	0,077

SNP	Effektallel	Phänotyp	R	SE	p- Wert
	G	Verbales Gedächtnis	1,626	0,756	0,032
	G	Verzögerte Wiedergabe	1,219	0,669	0,069
rs4431523	C	Verbale Paarererkennung I	0,294	0,142	0,039
rs2710117	T	Aufmerksamkeit	-0,955	0,536	0,075
	T	Zahlenspanne	-0,456	0,165	0,006
rs2708285	A	Blockspanne	-0,324	0,147	0,028
	A	Aufmerksamkeit	-1,208	0,529	0,023
	A	Zahlenspanne	-0,281	0,163	0,085
rs10240503	G	Information / Orientierung	-0,092	0,043	0,033
	G	Logisches Gedächtnis I	0,980	0,545	0,073
	G	Verbales Gedächtnis	2,091	1,183	0,078
rs2710126	G	Logisches Gedächtnis I	-0,790	0,354	0,026
	G	Allgemeines Gedächtnis	-1,921	0,987	0,052
	G	Verbales Gedächtnis	-1,682	0,772	0,030
rs2040921	A	Information / Orientierung	0,049	0,027	0,073
rs4526286	G	Blockspanne	0,274	0,145	0,058
	G	Verbale Paarererkennung II	0,087	0,038	0,023
rs4726969	T	Verzögerte Wiedergabe	-1,189	0,701	0,090
	T	Visuelles Gedächtnis	-0,678	0,394	0,086
	T	Visuelle Wiedergabe I	-0,606	0,263	0,022
	T	Visuelle Wiedergabe II	-0,680	0,345	0,049
rs9648691	G	Verzögerte Wiedergabe	1,276	0,687	0,064
	G	Visuelles Gedächtnis	0,882	0,388	0,023
	G	Visuelle Wiedergabe I	0,681	0,260	0,009
	G	Visuelle Wiedergabe II	0,740	0,339	0,029

Grün hinterlegte Felder = signifikante Assoziationen ($p < 0,05$), Gelb hinterlegte Felder = Trend ($p < 0,1$), SE = Standardfehler, R=Regressionskoeffizient

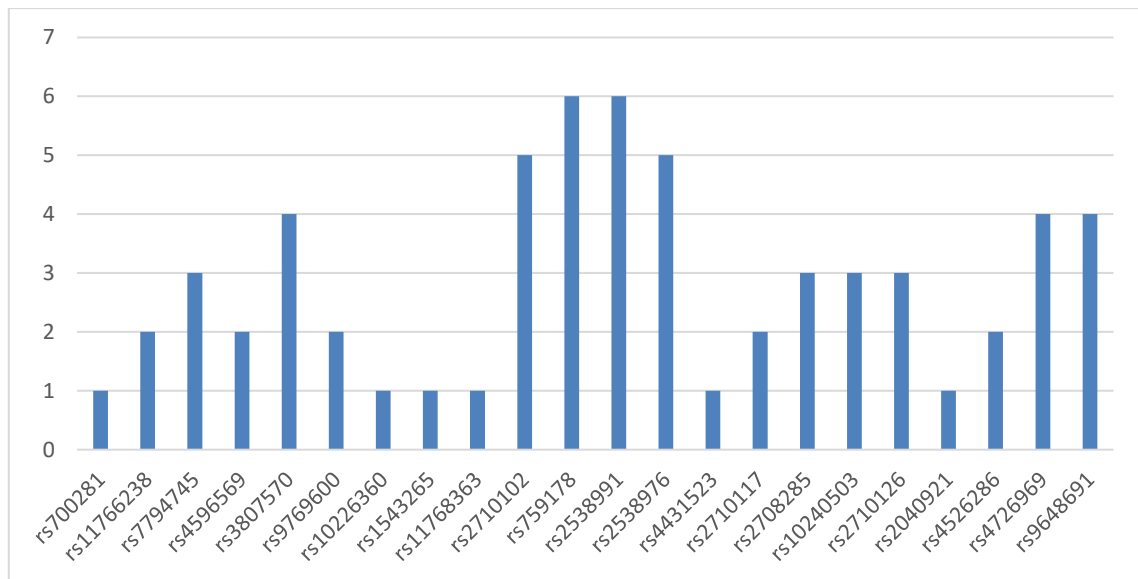


Abbildung 6: Häufigkeit identifizierter SNP Assoziationen mit WMS-R Subtests und Leistungsskalen; y-Achse entspricht der absoluten Häufigkeit der Assoziation; Anordnung der SNPs in 5'-3' Richtung auf dem Gen

3.5 Lokalisation signifikanter SNPs für Schizophrenie und Gedächtnisleistung auf dem CNTNAP2 Gen

Die in Kapitel 3.3 und 3.4 als signifikant mit Schizophrenie respektive Gedächtnisleistung assoziiert identifizierten SNPs wurden ihrer Lokalisation auf dem CNTNAP2 Gen entsprechend zueinander aufgetragen.

Es zeigte sich eine Häufung sowohl signifikant mit Schizophrenie als auch mit Gedächtnisleistung assoziierter SNPs von der Genposition 7:147639431 bis 7:147978187 (339kb) sowie 7:148393143 bis 7:148409398 (16kb).

In erstgenanntem, Exon 13 bis 15 umfassenden, Bereich sind sowohl 6 der 10 der mit Schizophrenie als auch 10 von 22 (darunter 4 von 7 größer 4-fach) der mit Gedächtnisleistung assoziierten SNPs lokalisiert.

Die Gesamtheit und Lokalisation signifikanter Assoziationen respektive Trends in der Endophänotypen- und Fall-Kontroll-Assoziationsstudie von CNTNAP2 veranschaulicht Tabelle 16.

Tabelle 16: Korrelation signifikanter Assoziationen resp. Trends von Fall-Kontroll-Assoziations- und Endophänotypenstudie in der Region von Exon 13 bis 15

Position	SNP Assoziation Schizophrenie CNTNAP2 5'-3' (n)	SNP Assoziation Gedächtnisleistung CNTNAP2 5'-3' (n)	Position
7:146113033	rs1260124	rs1260124	7:146113033
7:146495785	rs700281	rs700281 (1)	7:146495785
7:146548593	rs11766238	rs11766238 (2)	7:146548593
7:146614760	rs10234219	rs10234219	7:146614760
7:146792514	rs7794745	rs7794745 (3)	7:146792514
7:146880349	rs4596569	rs4596569 (2)	7:146880349
7:147128969	rs3807570	rs3807570 (4)	7:147128969
7:147158464	rs1390718	rs1390718	7:147158464
7:147257305	rs9769600	rs9769600 (2)	7:147257305
7:147509347	rs10226360	rs10226360 (1)	7:147509347
7:147711401	rs1543265	rs1543265 (1)	7:147711401
7:147722591	rs11768363 (2)	rs11768363 (1)	7:147722591
7:147877298	rs2710102	rs2710102 (5)	7:147877298
7:147878020	rs759178	rs759178 (6)	7:147878020
7:147882527	rs2538991	rs2538991 (6)	7:147882527
7:147888727	rs2538976 (1)	rs2538976 (5)	7:147888727
7:147900074	rs4431523 (2)	rs4431523 (1)	7:147900074
7:147904680	rs2710117 (3)	rs2710117 (2)	7:147904680
7:147941631	rs2707575 (1)	rs2707575	7:147941631
7:147966873	rs2708285	rs2708285 (3)	7:147966873
7:147977886	rs10240503 (1)	rs10240503 (3)	7:147977886
7:147994010	rs2710075	rs2710075	7:147994010
7:148056805	rs2710126	rs2710126 (3)	7:148056805
7:148185174	rs2040921	rs2040921 (1)	7:148185174
7:148210234	rs4526286 (2)	rs4526286 (2)	7:148210234
7:148277413	rs12540404	rs12540404	7:148277413
7:148393143	rs4726969 (1)	rs4726969 (4)	7:148393143
7:148406895	rs10215248 (3)	rs10215248	7:148406895
7:148409398	rs9648691 (2)	rs9648691 (4)	7:148409398

Rot umrandete Region= Exon 13 bis 15, Grün hinterlegte Felder= mit Schizophrenie assoziierte SNPs, hellblau hinterlegte Felder= mit Gedächtnisleistung assoziierte SNPs < 4 Assoziationen, dunkelblau hinterlegte Felder= mit Gedächtnisleistung assoziierte SNPs >= 4 Assoziationen, n= Häufigkeit der Assoziationen

Für die SNPs rs2538976, rs4431523 und rs9648691 ist das seltenere Allel jeweils mit schlechteren Leistungen in Leistungsaspekten- resp. Subtests sowie einer erhöhten Suszeptibilität für Schizophrenie assoziiert.

Für die SNPs rs2710117 und rs4726969 ist das häufigere Allel jeweils mit schlechteren Leistungen in Leistungsaspekten- resp. Subtests sowie einer erhöhten Suszeptibilität für Schizophrenie assoziiert.

Für den SNP rs4526286 ist das häufigere, für den SNP rs11768363 das seltenere Allel sowohl mit einem besseren Abschneiden in Leistungsaspekten- resp. Subtests sowie einer erhöhten Suszeptibilität für Schizophrenie assoziiert.

Für den SNP rs10240503 ist das seltenere Allel mit einem schlechteren Abschneiden in Subtests, einem besseren Abschneiden in Leistungsaspekten sowie einer erhöhten Suszeptibilität für Schizophrenie assoziiert.

3.6 Haplotypen

Der p-Wert wurde mit einem Permutationstest mit 50.000 Permutationen bestimmt.

Für die Haplotypanalyse wurden nur Haplotypen mit einer Frequenz über 1% in die Analyse mit einbezogen; Probanden mit mehr als 50% fehlenden Genotypen wurden ausgeschlossen. Die Stichprobengröße betrug 852 (503 Kontrollen; 349 Patienten).

3.6.1 Haplotypbeschreibung

Für das CNTNAP-2-Gen konnten anhand von acht der genotypisierten SNPs (rs2710102, rs759178, rs2538991, rs2538976, rs4431523, rs2710117, rs9648691 und rs10215248) sieben Haplotypen (TTTATT, CGGGCA, CGGGTA, TTTATA, TG, CA und TA) und zwei Linkage Disequilibrium (LD)- Blöcke identifiziert werden. Die übrigen 21 SNPs waren in keinem der beiden LD-Blöcke enthalten.

Block 1 (27 kb; zwischen Exon 14 und 15 gelegen) bestand aus den SNPs rs2710102, rs759178, rs2538991, rs2538976, rs4431523 und rs2710117,

Block 2 (2 kb; am 3'-Ende des Gens gelegen, beinhaltet Exon 23) aus den SNPs rs10215248 und rs9648691.

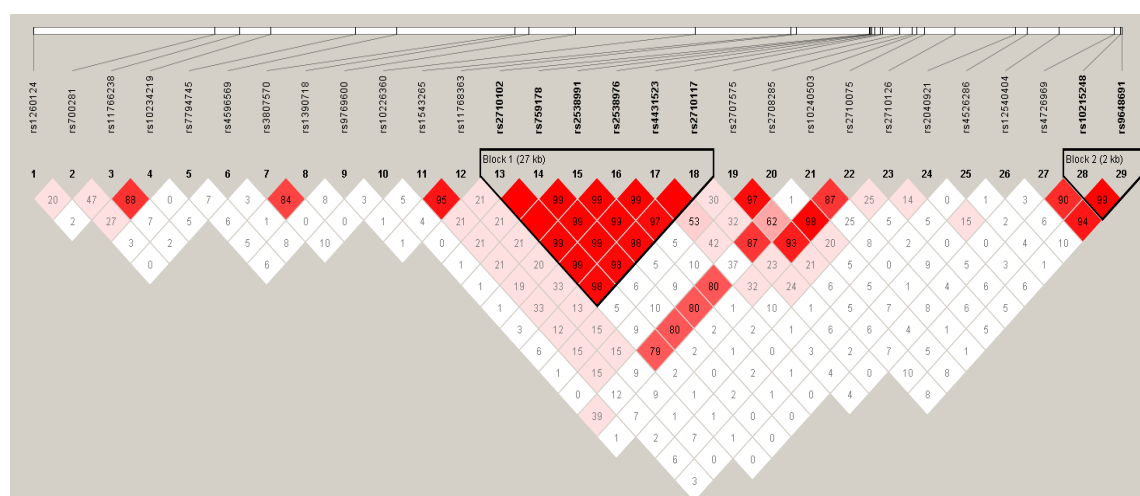


Abbildung 7: LD-Blockstruktur der untersuchten Polymorphismen mit den Haploscores für das Kopplungsungleichgewicht

3.6.2 Haplotypanalyse

Sowohl Haplotypen aus Block 1 (TTTATT, CGGGTA, TTTATA) als auch Block 2 (TG, CA) wiesen Signifikanzen oder Trends im Abschneiden in Leistungsskalen und Subtests der WMS-R auf (s. *Tabelle 17*).

Für die Haplotypen TA (Block 2) und CGGGCA (Block 1) konnten keine signifikanten Assoziationen oder Trends nachgewiesen werden.

Tabelle 17: Haplotypen des CNTNAP-2-Gens assoziiert mit Gedächtnisleistungen in der WMS-R

Haplotyp	Block	Haplotyp Frequenz	Leistungsskala / Subtest	P	sim_p
TTTATT	1	0,361	Verbale Paarerkennung II	0,082	0,077
CGGGTA	1	0,171	Information / Orientierung	0,029	0,021
			Zahlenspanne	0,031	0,035
TTTATA	1	0,147	Verbales Gedächtnis	0,009	0,015
			Allgemeines Gedächtnis	0,061	0,057
			Verzögerte Wiedergabe	0,083	0,086
			Logisches Gedächtnis I	0,006	0,007
			Logisches Gedächtnis II	0,002	0,002
TG	2	0,419	Visuelle Wiedergabe II	0,099	0,098
CA	2	0,356	Verzögerte Wiedergabe	0,060	0,068
			Logisches Gedächtnis II	0,097	0,093

Grün hinterlegte Felder = signifikante Assoziationen ($p < 0,05$), Gelb hinterlegte Felder = Trend ($p < 0,1$)

Am häufigsten konnte eine Assoziation des Haplotyps TTTATA (5-fach, davon drei signifikante Ergebnisse und zwei Trends) mit einer besseren Gedächtnisleistung in den entsprechenden Subtests und Leistungsskalen nachgewiesen werden.

Einen Überblick über die Häufigkeit der Assoziation der Haplotypen mit der Gedächtnisleistung gibt *Abbildung 8*.

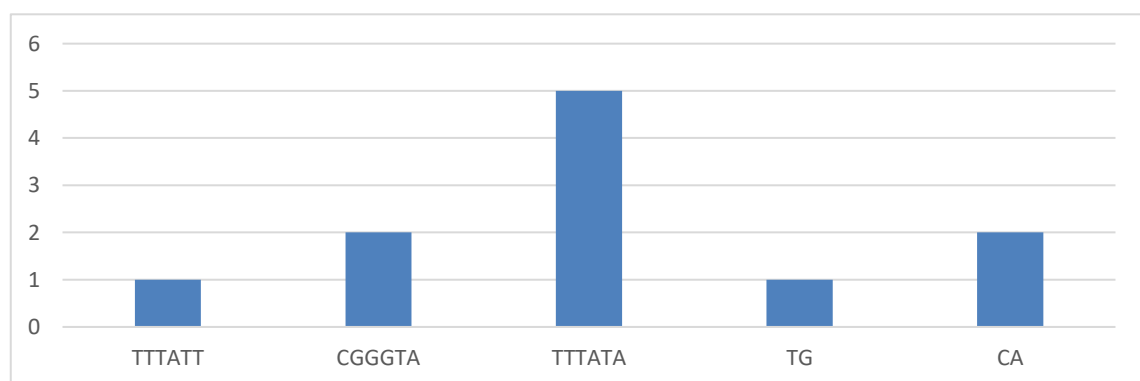


Abbildung 8: Häufigkeit der Haplotypassoziation mit der Gedächtnisleistung; y-Achse entspricht der absoluten Häufigkeit der Assoziation

Die individuellen Signifikanzen und Trends der in LD-Block 1 und 2 vertretenen Einzel-nukleotidpolymorphismen rs2710102, rs759178, rs2538991, rs2538976, rs2710117 und rs9648691 in der Endophänotypenstudie (s. *Tabelle 15*) korrelieren mit den für die entsprechenden Haplotypen in *Tabelle 17* beschriebenen Assoziationen mit Gedächtnisleistungen in der WMS-R.

Die SNPs rs4431523 in Block 1 sowie rs10215248 in Block 2 weisen keine mit den Haplotypen korrelierende Signifikanzen in der Endophänotypenstudie auf.

Für die haplotypische Signifikanz der Kategorien „Verbale Paarererkennung II“ und „Information / Orientierung“ in Block 1 findet sich ebenso wie für die Kategorie „Logisches Gedächtnis II“ in Block 2 keine Entsprechung in den Signifikanzen der beteiligten Polymorphismen in der Endophänotypenstudie (siehe *Tabelle 18*).

Tabelle 18: Korrelation der Signifikanzen von Haplotypen und individuellem SNP

LD - Block	Leistungsskala / Subtest	Korrelierende SNPs
1	Verbale Paarererkennung II	keine
1	Information / Orientierung	keine
1	Zahlenspanne	rs2710117
1	Verbales Gedächtnis	rs2710102, rs759178, rs2538991, rs2538976
1	Allgemeines Gedächtnis	rs759178, rs2538991, rs2538976
1	Verzögerte Wiedergabe	rs2710102, rs759178, rs2538991, rs2538976
1	Logisches Gedächtnis I	rs2710102, rs759178, rs2538991, rs2538976
1	Logisches Gedächtnis II	rs2710102, rs759178, rs2538991, rs2538976
2	Visuelle Wiedergabe II	rs9648691
2	Verzögerte Wiedergabe	rs9648691
2	Logisches Gedächtnis II	keine

4 Diskussion

4.1 Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse

Es war Gegenstand der vorliegenden Arbeit, 29 Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs) des CNTNAP2 Gens einerseits auf ihren Zusammenhang mit Schizophrenie sowie andererseits auf ihre Assoziation in Hinblick auf den Endophänotyp Gedächtnisleistung zu untersuchen. In einem Studienkollektiv, bestehend aus 349 schizophrenen Patienten und 503 gesunden Kontrollprobanden, wurde hierzu zunächst eine Fall-Kontroll-Assoziationsstudie, später eine Endophänotypenstudie und Haplotypanalyse durchgeführt.

In allen Studienreihen konnten multiple signifikante Assoziationen von SNPs des CNTNAP2 Gens zu Schizophrenie und Gedächtnisleistung aufgezeigt werden. Als besonders exponiert für signifikante SNP stellte sich die Region von Exon 13 bis 15 des Gens, einem potentiellen Bindungsareal des Transkriptionsfaktors FOXP2, dar.

Es liegt die Annahme nahe, dass CNTNAP2 ein Suszeptibilitätsgen sowohl für Schizophrenie als auch den Endophänotyp Gedächtnisleistung ist.

4.2 Diskussion der Methoden

Fall-Kontroll-Assoziationsstudien sind etablierte Konzepte, um Faktoren in einem Genom aufzudecken, die lediglich einen geringen Einfluss auf die Krankheitsätiologie haben. Die Detektion solcher Faktoren gelingt anhand der Assoziation von SNPs in der Patienten- und Kontrollpopulation (Maier et al. 1999, Owen 2000).

Das Beibehalten standardisierter Studiendesigns erlaubt eine gute Vergleichbarkeit neuer Ergebnisse mit bereits vorliegenden Assoziationsstudien. Das für die vorliegende Arbeit gewählte Studiendesign entsprach daher ebenso wie die gewählten statistischen Methoden der im Rahmen von bereits veröffentlichten Assoziationsstudien etablierten Konzepten. Auf die Korrektur einer möglichen Alpha-Fehler-Kumulierung wurde zugunsten einer Vergleichbarkeit der erhobenen Daten verzichtet.

Zu kleine Teilnehmerkollektive erschweren es, bei innerhalb der Gesamtbevölkerung sehr selten oder sehr häufig auftretenden Krankheitsmarkern eine valide Aussage zu treffen. Die vorliegende Studie umfasst 349 Patienten und 503 Probanden und liegt mit einem Studienkollektiv von 852 Teilnehmern im Mittelfeld gängiger Assoziationsstudiengrößen (Owen 2000, Van Den Bogaert et al. 2003, Allen et al. 2008). Eine höhere Validität der Studie wäre durch eine vermehrte Teilnehmerzahl zu erreichen; Folgestudien mit einer größeren Stichprobe wären wünschenswert.

Bei der vorliegenden Endophänotypenstudie wurde keine Unterscheidung zwischen Patientenkollektiv und gesunden Probanden vorgenommen, sondern die Gesamtstichprobe

betrachtet. Eine weitere Aufschlüsselung der Ergebnisse in Patienten und Kontrollen hätte weitreichendere Aussagen zum Grad der Ausprägung und Beeinflussbarkeit des Endophänotyps Gedächtnisleistung bei Gesunden im Vergleich zu Schizophreniepatienten ermöglichen können.

Eine homogene ethnische Zusammensetzung der Studienpopulation ist analog zur Gruppengröße wichtige Voraussetzung für das Generieren valider Daten.

In die vorliegende Studie wurden zum Erreichen größtmöglicher genetischer Homogenität ausschließlich Personen aus dem kaukasischen Raum eingeschlossen, deren Abstammung sich auf mindestens drei Generationen nachvollziehen ließ. Durch Populationsstratifikation kann es zu falsch-positiven respektive -negativen Verfälschung des erhobenen Datenmaterials durch variierende Genotyp- und Allelfrequenzen von Einzelnukleotidpolymorphismen zwischen divergierenden Ethnien kommen (Owen 2000). Für die untersuchten SNPs unterscheidet sich die Frequenz der genetischen Varianten zwischen verschiedenen Ethnien (Yoruba, Japaner, Han Chinesen, Kaukasier) deutlich; alleine die SNPs rs2538991 und rs2708285 weisen panethnisch eine vergleichbare Frequenz auf (International HapMap Consortium, 2005). Die Aussagekraft der vorliegenden Studie ist daher auf die kaukasische Bevölkerung begrenzt.

Das Alter der Studienteilnehmer kann das Studienergebnis nachhaltig beeinflussen, wenn die Teilnehmerkohorten eine hohe Heterogenität im Altersdurchschnitt aufweisen. Dies trifft insbesondere zu, wenn das Durchschnittsalter der Kontrollprobanden unterhalb des typischen Ersterkrankungsalters für Schizophrenie, also zwischen 22 und 32 Jahren, liegt (An der Heiden & Häfner 2000). In der vorliegenden Studiengruppe lag das mittlere Alter für Patienten bei 38,4 Jahren und für Kontrollen bei 50,7 Jahren und damit deutlich über dem 32. Lebensjahr.

Trotz eingehender Exploration vor Studieneinschluss ist nicht vollends auszuschließen, dass ein zum Untersuchungszeitpunkt gesunder Studienteilnehmer mit eventuell späterem Krankheitsbeginn in das Kontrollprobandenkollektiv eingeschlossen wurde.

Neben dem Alter spielt in der Schizophrenie das Geschlecht eine entscheidende Rolle. Bei einem um etwa 1,4fach erhöhten Erkrankungsrisiko von Männern wird von einer androtropen Erkrankung ausgegangen (McGrath et al. 2004). Bei der Zusammenstellung der Studienteilnehmer ist deshalb auf ein ausgeglichenes Geschlechterverhältnis zu achten. Mit einem Frauenanteil von 51,1% im Probandenkollektiv ist in der vorliegenden Stichprobe von einem ausgeglichenen Verhältnis auszugehen; der Frauenanteil von lediglich 40,7% im Patientenkollektiv und die nicht geschlechtsspezifische konsekutive Auswertung des patientenbezogenen Datenmaterials ist hingegen ein möglicher Kritikpunkt dieser Arbeit.

Um aus im Rahmen einer Studie erhobenem Datenmaterial eine gültige statistische Aussage treffen zu können, postuliert Gaus eine möglichst hohe Strukturgleichheit der zu vergleichenden Patienten- und Probandenkollektive (Gaus 1991).

Da zahlreiche Variable wie Geschlecht, Schulbildung, Alkohol- und Drogenkonsum oder Migrationshintergrund einen Einfluss auf die Entstehung der Schizophrenie ebenso wie auf die Gedächtnisleistung haben, ist eine homogene Zusammensetzung der Studiengruppe entscheidend.

Bei der Auswahl der Studienteilnehmer wurde keine Selektion bezüglich der Schulbildung, des Alters oder des Geschlechts durchgeführt. In der vorliegenden Stichprobe ist der Anteil der Personen im Besitz der (Fach-)Hochschulreife höher als im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung (41,4% versus 28,8%) (Statistisches Bundesamt 2014). In Hinblick auf die Schulbildung ist die vorliegende Studie also nicht repräsentativ, die Ergebnisse können nicht ohne weiteres auf die Allgemeinbevölkerung übertragen werden.

Durch stufenweise Rekrutierung mit strengen Ein- und Ausschlusskriterien wurde versucht, den Einfluss eines Großteils obiger Variablen zu minimieren und so weit wie möglich Strukturgleichheit herzustellen. Der Einfluss von Geschlecht, Alter und Schulbildung auf die Gedächtnisleistung wurde durch die lineare Regression in der Endophänotypenstudie als Kovariate berücksichtigt.

Schizophrene Patienten durchliefen eine Diagnosestellung gemäß DSM-IV sowie eine Abschätzung der Positiv- und Negativsymptomatik durch die PANSS (Kay et al. 1987), um schizoaffektive oder psychotische Patienten auszuschließen.

Den Einfluss von Psychopharmaka auf die Gedächtnisleistung des Patientenkollektivs und damit die Aussagekraft der Studie abzuschätzen ist nicht abschließend möglich, da die Symptom- bzw. Nebenwirkungsstärke einerseits mit der applizierten Psychopharmakadosis korreliert (Wittorf et al. 2008), andererseits auch interindividuell deutlich variiert. Durch die Selektion von Schizophreniepatienten in der nicht akuten Krankheitsphase mit bereits lange bestehender, etablierter Dauermedikation wurde versucht, diesen Einflussfaktor so weit wie möglich zu minimieren.

Kontrollprobanden wurden durch ein mehrstufiges Verfahren mit vorab durchgeführter Anamneseerhebung, einer körperlichen und neurologischen Untersuchung (ab dem sechzigsten Lebensjahr zusätzlich Durchführung eines Mini Mental Status Testes), dem Strukturierten Klinischen Interview Teil I und II, sowie dem Family History Assessment Modul auf psychiatrische oder somatische Erkrankungen getestet.

Beide Teilnehmerkollektive wurden durch SKID I und II sowie LEBI und FHAM exploriert. Bei strengen Ein- und Ausschlusskriterien sowie konsequenter Überprüfung derselben ist von einer homogenen, validen Stichgruppenkonzeption auszugehen.

In der vorliegenden Studie wurde zur Ermittlung der Gedächtnisleistungen die deutsche Adaption der überarbeiteten Fassung des Wechsler Memory Scale Revised (WMS-R) angewandt (Härting et al. 2000).

Die Ergebnisse des WMS-R liefern Erkenntnisse zu dem Leistungspotential der Probanden hinsichtlich des verbalen, visuellen und verzögerten Gedächtnisses, sowie zu Aufmerksamkeit und Konzentration.

Die WMS-R gilt als sprachlastiges Testverfahren; durch die gesonderte Auswertung von Leistungsaspekten und Subtests und nicht ausschließlicher Fokussierung auf den Gesamtscore respektive die Leistungsaspekte wurde versucht, diesem Bias entgegenzuwirken. Auf die Detektion von Assoziationen mit dem CNTNAP2 Gen könnte dieser Faktor einen größeren Einfluss als bei vergleichbaren Untersuchungen anderer Gene gehabt haben; es wurde in vorangehenden Arbeiten mehrfach ein Zusammenhang zwischen CNTNAP2 Einzelnukleotidpolymorphismen und Sprachentwicklungs- sowie Verständnisstörungen postuliert (Vernes et al. 2008, Panaitof et al. 2010, Rodenas-Cuadrado et al. 2013).

Die für die Reliabilität der Ergebnisse zwingend erforderliche Einhaltung des standardisierten Studiendurchführung analog des Handbuches zur WMS-R wurde mit den Versuchsleitern im Vorfeld der Studiendurchführung trainiert und durch die Studienleitung stichprobenartig überprüft.

Die Validität gemäß der Gütekriterien der WMS-R ist in der vorliegenden Teilnehmerpopulation gegeben, der valide Altersbereich vom 16. bis zum 75. Lebensjahr wurde weder unter- noch überschritten.

Durchführungs- als auch Auswertungsobjektivität wurden durch sorgfältiges Training der Versuchsleiter, standardisierte Rahmenbedingungen der Gedächtnistestung, mehrfachen Überprüfens von Testauswertungen durch verschiedene Personen sowie der endgültigen Freigabe eines Datensatzes ausschließlich durch die Studienleitung optimiert.

Bei aller Standardisierung war ein individueller Ermessens- und Variationsspielraum bei der Testdurchführung jedoch nicht vollends zu unterbinden.

4.3 Diskussion der Ergebnisse

Ziel dieser Arbeit war es zunächst, die SNPs des CNTNAP2 Gens in einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie auf ihren Zusammenhang mit Schizophrenie hin zu untersuchen.

Die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Polymorphismen waren bislang nicht als mit Schizophrenie assoziiert beschrieben worden. In bisherigen Studien zu CNTNAP2 konnte lediglich ein mit Schizophrenie assoziierter Polymorphismus (rs17236239) identifiziert werden (Ji et al. 2012).

In der hier vorgelegten Arbeit wurden erstmals für 10 der untersuchten 29 Polymorphismen signifikante Unterschiede in der Genotyp- und Allelverteilung zwischen schizophrenen Patienten und Kontrollprobanden nachgewiesen (s. *Tabelle 11*).

In vorausgehenden Arbeiten wurden für einen der detektierten SNPs gleichsam eine Assoziation mit schweren depressiven Episoden (Ji et al. 2012) sowie für zwei weitere ein Zusammenhang mit Sprachentwicklungs- und Verständnisstörungen (Vernes et al. 2008) beschrieben. Sieben der SNPs wurden bislang in keinerlei Zusammenhang mit einer psychiatrischen Erkrankung gebracht (s. *Tabelle 19*).

Tabelle 19: Übersicht bisheriger Forschungsstand in dieser Arbeit signifikanter SNPs

SNP	Vorbeschriebene Assoziationen	Autoren (Jahr)
rs2710117	Major Depression	Ji et al (2012)
rs2538976	Sprachentwicklungsstörung	Vernes et al (2008)
rs4431523	Sprachentwicklungsstörung	Vernes et al (2008)
rs2707575	keine Daten vorliegend	keine Studien vorliegend
rs4526286	keine Daten vorliegend	keine Studien vorliegend
rs4726969	keine Daten vorliegend	keine Studien vorliegend
rs9648691	keine Daten vorliegend	keine Studien vorliegend
rs10240503	keine Daten vorliegend	keine Studien vorliegend
rs11768363	keine Daten vorliegend	keine Studien vorliegend
rs10215248	keine Daten vorliegend	keine Studien vorliegend

Bis auf die SNPs rs10240503 und rs9648691, die in Exon 15 respektive 23 lokalisiert sind und für synonyme Codons kodieren, sind alle weiteren SNPs in nichtcodierenden Arealen des CNTNAP2 Gens lokalisiert (s. *Tabelle 10*).

Auf dem Genabschnitt vor Exon 13 konnte für keinen der untersuchten SNPs eine signifikanter Zusammenhang mit Schizophrenie nachgewiesen werden; aus der Gruppe der signifikanten SNPs lagen sechs der zehn detektierten Polymorphismen im Bereich von Exon 13 bis 15, vier weitere am 3'-Ende des Gens.

Die Häufung signifikant mit Schizophrenie assoziierter SNPs im Bereich von Exon 13 bis 15 deckt sich mit dem Ergebnis der Arbeit von Ji et al., die gleichsam den Bereich zwischen Exon 13 und 15 als einen möglichen Suszeptibilitätsloкус für Schizophrenie identifizierten (Ji et al. 2012).

Ji et al. untersuchten in Ihrer Arbeit 14 anhand vorausgehender Forschung bereits mit kognitiven Veränderungen assoziierte SNPs des CNTNAP2 Gens auf eine Assoziation mit Schizophrenie, Depression und bipolarer affektiver Störung.

Für die in beiden Arbeiten untersuchten und in der vorliegenden Arbeit als teils signifikant mit Schizophrenie assoziierten SNPs rs2710117 und rs2538976 konnte in der Arbeit

von Ji et al. kein Zusammenhang mit Schizophrenie, für rs2710117 allerdings eine Assoziation mit dem Auftreten depressiver Erkrankungen, nachgewiesen werden. Dies kann als Anhalt für die These eines gemeinsamen genetischen Fundamentes verschiedener kognitiver Störungen gewertet werden (Burbach & van der Zwaag 2009). In der Vergangenheit wurden bereits mehrfach SNPs beschrieben, die sowohl bei der Genese depressiver als auch schizophrener Erkrankungen eine Rolle spielen (Chen et al. 2011, Morris et al. 2012). Auch können die Übergänge verschiedener psychiatrischer Erkrankungen fluktuieren und die letztlich untersucherabhängige Kategorisierung und Diagnosestellung erschweren (Burbach & van der Zwaag 2009, Paula-Perez 2012).

Für die ebenfalls in beiden Arbeiten untersuchten SNPs rs759178 und rs7794745 konnte in keiner der Studien eine Assoziation mit Schizophrenie nachgewiesen werden (Ji et al. 2012).

Mögliche Erklärungen der divergierenden Ergebnisse liefern Unterschiede im Studiendesign, z.B. durch unterschiedliche genetische Hintergründe der untersuchten Bevölkerungsgruppen mit Han Chinesen versus Kaukasiern, die Rekrutierung eines jüngeren (35,2 vs. 38,4 Jahren) Patientenkollektivs durch Ji et al. direkt aus psychiatrischen Kliniken ohne Angabe zu Medikation oder Krankheitsphase zum Zeitpunkt der Untersuchung, die Fokussierung der vorliegenden Arbeit auf Schizophrenie mit dem Einschluss bislang unbeschriebener SNPs gegenüber einer breiteren Ausrichtung von Ji et al. auf in der Literatur bereits vorbeschriebene Kandidaten-SNPs multipler psychiatrischer Erkrankungen, eine geschlechtsabhängig getrennte Datenauswertung durch Ji et al. oder schlicht die im Vergleich deutlich größere und damit repräsentativere Studienkohorte von Ji et al. mit im Vergleich zur vorliegenden Arbeit 2270 vs. 852 Teilnehmern.

Neben obiger Fall-Kontroll-Assoziationsstudie war die auf dem Prinzip der Endophänotypen basierende Untersuchung der Gesamtzahl genotypisierter schizophrener Patienten und gesunder Kontrollprobanden mittels der WMS-R auf ihre Gedächtnisleistung hin Gegenstand der Arbeit.

Es wurde getestet, inwiefern Allele und Genotypen in den beschriebenen Polymorphismen Auswirkungen auf Teilbereiche des Gedächtnisses und damit als möglicher Endophänotyp indirekt auch auf die Schizophrenie haben könnten (Goldman-Rakic 1994, Elissalde et al. 2011).

Die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Polymorphismen waren bislang nicht Gegenstand der Gedächtnisforschung. Für das CNTNAP2 Gen wurde bis zum jetzigen Zeitpunkt noch kein die Gedächtnisleistung modifizierender Polymorphismus beschrieben.

Die vorgelegte Arbeit konnte somit erstmals für 22 der untersuchten 29 Polymorphismen signifikante Assoziationen resp. Trends zwischen Genotyp- und Allelverteilung von CNTNAP2 Polymorphismen und dem Abschneiden in WMS-R Leistungsaspekten und

Subtests identifizieren (vergleiche *Tabelle 13*, *Tabelle 14* und *Tabelle 15* des Ergebnisteils dieser Arbeit).

Es fällt die Häufung signifikanter Assoziationen bzw. Trends zwischen Genotyp- und Allelverteilung und der aus WMS-R Leistungsskalen und Subtests kumulierten Gesamtgedächtnisleistung in der Region um Exon 13 bis 15 auf.

Das Endophänotypenkonzept bestätigend finden sich drei von sieben der in der Gesamtgedächtnisleistung (WMS-R Subtests und Leistungsskalen) am häufigsten signifikanten SNPs (rs2538976, rs4726969 und rs9648691) ebenfalls in dem mit Schizophrenie assoziierten SNP-Kollektiv wieder. Acht von zehn der signifikanten Einzelnukleotidpolymorphismen der Schizophrenieassoziationsstudie weisen signifikante Ergebnisse bzw. Trends im Abschneiden in der Gesamtgedächtnisleistung auf (*s. Abbildung 9*). Bei sechs dieser SNPs (rs4431523, rs2710117, rs9648691, rs4726969, rs2538976, rs10240503) sind die mit einer erhöhten Schizophreniesuszeptibilität einhergehenden Allele ebenfalls mit einem schlechteren Abschneiden in der Gesamtgedächtnisleistung assoziiert (*s. Tabelle 11, Tabelle 12, Tabelle 13, Tabelle 14*).

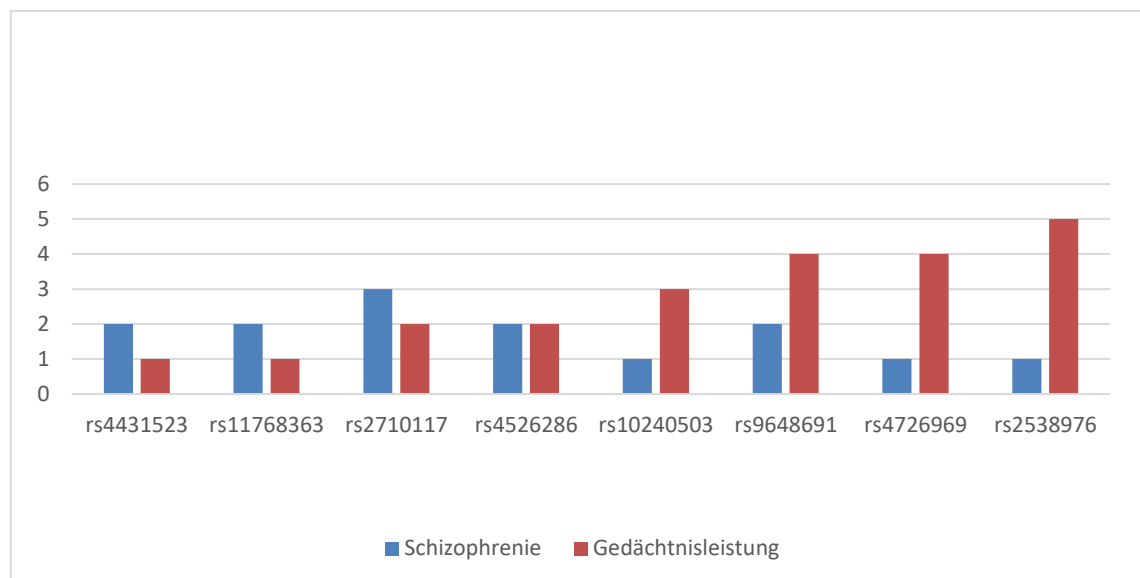


Abbildung 9: SNP Assoziationen mit beidermaßen Gedächtnisleistung und Schizophrenie; y-Achse entspricht der absoluten Häufigkeit der Assoziation

SNP rs1260124, der sich als in der potentiellen Promotorregion von CNTNAP2 gelegen im Vorfeld der Arbeit als vielversprechendster Kandidat für eine Assoziation zu Schizophrenie oder Gedächtnisleistung präsentiert hatte, erwies sich in keiner Untersuchung als signifikant.

In der Haplotypanalyse zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang mehrerer Haplotypen innerhalb der jeweiligen Linkage Disequilibrium (LD)- Blöcke mit dem Abschneiden

in Leistungsskalen und Subtests der WMS-R in der Endophänotypenstudie (s. *Tabelle 17*).

Die individuellen Signifikanzen und Trends der in LD-Block 1 und 2 vertretenen Einzel-nukleotidpolymorphismen korrelieren größtenteils mit der für die entsprechenden Haplotypen in *Tabelle 17* beschriebenen Assoziation mit Gedächtnisleistungen in der WMS-R.

Bei lediglich zwei mit keiner Unterkategorie assoziierten SNPs der entsprechenden Haplotypen lässt sich das signifikante Abschneiden gerade des ersten LD-Blockes am ehesten auf den hohen Anteil signifikanter SNPs in dieser (erneut innerhalb von Exon 13 bis 15 gelegenen) Genregion zurückführen.

Von allen in den LD-Blöcken enthaltenen SNPs sind lediglich rs759178 und rs10215248 zwar signifikant mit entweder Assoziations- oder Endophänotypenstudie, jedoch nicht mit beiden Untersuchungen, assoziiert. Dem Endophänotypenkonzept folgend wäre eine beidseitige Assoziation anzunehmen gewesen.

In dieser Arbeit bestätigt sich die neben von Vernes et al. für Sprachentwicklungsstörungen und sprachliche Leistungen (Vernes et al. 2008) zuletzt von Ji et al. postulierte Signifikanz der Region um Exon 13 bis 15 des CNTNAP2 Gens für eine Assoziation mit Schizophrenie (Ji et al. 2012).

Mit der Annahme eines Schizophrenie-Suszeptibilitätslokus in der Region von Exon 13 bis 15 von CNTNAP2 bekommt die diesem Genabschnitt von Vernes et al. zuattributierte Stellung als mögliche FOXP2-Binderegion ebenso wie der FOXP2 Signalweg eine neue Signifikanz in der Erforschung der Pathogenese psychiatrischer Erkrankungen und der Schizophrenieforschung (Vernes et al. 2008). Die Annahme einer erhöhten Vulnerabilität für Schizophrenie bei Modifikationen in diesem Genabschnitt erhärtet sich.

Da zum aktuellen Zeitpunkt nur vereinzelt Assoziations- sowie Endophänotypenstudien zu den hier untersuchten CNTNAP2-Polymorphismen publiziert wurden, erscheint die Durchführung weiterer Studien zur Validierung der in dieser Arbeit dargestellten Ergebnisse und postulierten Schlussfolgerungen sinnvoll.

Insbesondere die SNPs rs2538976, rs4726969 und rs9648691 sollten an größeren Probandenkollektiven in weiteren Assoziations- und Endophänotypenstudien analysiert werden.

4.4 Ausblick

Die Identifikation und Analyse von Genen, die auf Pathogenese und Suszeptibilität der Schizophrenie einwirken und konsekutiv die Charakterisierung pharmakologisch beeinflussbarer Proteine ermöglichen, ist für die Erforschung der Erkrankung sowie die Konzeption zukünftiger Therapie- und Präventionsansätze unverzichtbar.

Modifikationen des CNTNAP2 Gens wurden bislang vor allem in Hinblick auf Autismus und Sprachentwicklungsstörungen untersucht und im Kontext der Schizophrenie wenig beachtet.

Die vorliegende Arbeit legt die Annahme nahe, dass CNTNAP2 sowohl ein Suszeptibilitätsgen für Schizophrenie als auch den Endophänotypen Gedächtnisleistung ist.

Dies sollte in Zukunft anhand größerer Studienpopulationen in verschiedenen ethnischen Bevölkerungsgruppen unter Einbeziehung von Umwelt-Gen-Interaktionen, möglichen Kopplungsungleichgewichten, epigenetischen Faktoren und Analyse von Haplotypen validiert werden.

In Zusammenschau der vorliegenden und bereits andernorts publizierten Ergebnisse erscheint die weitere Forschung an CNTNAP2, seinem Genprodukt Caspr2 sowie dem FOXP2 Signalweg als erfolgversprechend für ein tieferes Verständnis der Schizophrenie.

Abkürzungen und Fachbegriffe

ANA	Anamnesebogen
APA	American Psychiatric Assoziation
bp	Basenpaare
CNTNAP2	Contactin-associated protein-like2
CNV	Copy Number Variant
CT	Computertomographie
Da	Dalton
ddNTP's	Didesoxynukleotide
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphate
DSM-IV	Diagnostischer und statistischer Leitfaden psychischer Störungen
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
FHAM	Family History Assessment Modul
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
FSK	First-Rank Symptoms
GABA	γ -Aminobuttersäure
GWAS	Genomweite Assoziationsstudien
HCL	Salzsäure
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HWE	Hardy-Weinberg-Equilibrium
ICD-10	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems
IgG, M	Immunglobulin G, M
LD	Linkage-Disequilibrium
LEBI	Leipziger Erlebnis- und Belastungsinventar
LTP	Langzeitpotentierung
MALDI-TOF	Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation und Massenspektrometrie mit Flugzeitanalysator
MAPK	Mitogen Aktivierte Proteinkinase
mb	Megabase
mDNA	mitochondriale DNA
Met	Methionin
MHC	Major Histocompatibility Complex
ml	Milliliter
MMST	Mini Mental Status Test
mRNA	mitochondriale Ribonukleinsäure
NDMA	N-Methyl-D-Aspartat
nm	Nanometer
NO	Stickstoffmonoxid
OR	Odds Ratio
PCP	Phencyclidin
PCR	Polymerasekettenreaktion
PPI	Präpulsinhibition
p-Wert	probability-Wert

RNA	Ribonucleic acid
rpm	rounds per minute
RTK	Rezeptorkinasen
SAP	Shrimp Alkaline Phosphatase
SD	Standard Deviation
SKID	Strukturiertes klinisches Interview
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
STG	Gyrus temporalis superior
TCF	Transcription Factor
TDT	Transmissions-Disequilibrium-Test
TLR	Toll-like-Rezeptoren
WHO	World Health Organization
WMS-R	Wechsler Memory Scale - Revised
ZNS	zentrales Nervensystem

Eidesstattliche Versicherung

Kühborth, Karsten

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

**„Einfluss genetischer Polymorphismen des CNTNAP2 Gens auf
Schizophrenie und kognitive Phänotypen“**

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Ort, Datum

Unterschrift Doktorand

Danksagung

Mein Dank gilt der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Peter Falkai für die Bereitstellung der exzellenten Rahmenbedingungen zur Realisation der vorliegenden Arbeit.

Ich danke ganz herzlich Herrn Prof. Dr. Dan Rujescu für das Überlassen des Dissertationsthemas, seinen Mitarbeitern, allen voran Frau PD Dr. Ina Giegling und ganz besonders herzlich Frau Dr. Annette Hartmann für die hervorragende, engagierte Betreuung sowie meinen Mit-Doktoranden, die mir die Arbeit zum Vergnügen gemacht haben.

Ich danke allen, die mich bei dieser Arbeit mit Rat und Tat, Tipps und Tricks und dem gelegentlichen Stups in die richtige Richtung unterstützt haben; ganz besonders Anna für die Aufmunterung, wenn es gar nicht mehr weitergehen wollte und meinem Freund Klaus für den Motivationsschub und Blick über den Tellerrand zur rechten Zeit.

Mein größter Dank gilt meiner Mutter, meinen Großeltern und meinen famosen Geschwistern – ihr seid großartig!

Danke euch allen!

Literaturverzeichnis

- Abrahams, B.S., Tentler, D., Perederiy, J.V., Oldham, M.C., Coppola, G. and Geschwind, D.H. (2007). "Genome-wide analyses of human perisylvian cerebral cortical patterning." *Proc Nat Acad Sci* 104(45): 17849-17854.
- Alarcón, M., Abrahams, B.S., Stone, J.L., Duvall, J.A., Perederiy, J.V., Bomar, J.M., Sebat, J., Wigler, M., Martin, C.L., Ledbetter, D.H., Nelson, S.F., Cantor, R.M. and Geschwind, D.H. (2008). "Linkage, Association, and Gene-Expression Analyses Identify CNTNAP2 as an Autism-Susceptibility Gene." *American Journal of Human Genetics* 82(1): 150-159.
- Aleman, A., Hijman, R., de Haan, E.H. and Kahn, R.S. (1999). "Memory impairment in schizophrenia: a meta-analysis." *Am J Psychiatry* 156(9): 1358-1366.
- Alkelai, A., Lupoli, S., Greenbaum, L., Kohn, Y., Kanyas-Sarner, K., Ben-Asher, E., Lancet, D., Macciardi, F. and Lerer, B. (2011). "DOCK4 and CEACAM21 as novel schizophrenia candidate genes in the Jewish population." *Int J Neuropsychopharmacol* 15(4): 541.
- Allen, N.C., Bagade, S., McQueen, M.B., Ioannidis, J.P., Kavvoura, F.K., Khoury, M.J., Tanzi, R.E. and Bertram, L. (2008). "Systematic meta-analyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia: the SzGene database." *Nature Genetics* 40(7): 827-834.
- An der Heiden, W. and Häfner, H. (2000). "The epidemiology of onset and course of schizophrenia." *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 250(6): 292-303.
- Andreasen, N.C. and Olsen, S. (1982). "Negative vs positive schizophrenia. Definition and validation." *Arch Gen Psychiatry* 39(7): 789-794.
- APA (2013). "Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM V), Fifth Edition." Washington, D.C., American Psychiatric Association.
- Arking, D.E., Cutler, D.J., Brune, C.W., Teslovich, T.M., Wesk, K., Ikeda, M., Rea, A., Guy, M., Lin, S., Cook, E.H. and Chakravarti, A. (2008). "A common genetic variant in the neurexin superfamily member CNTNAP2 increases familial risk of autism." *American Journal of Human Genetics* 82(1): 160-164.
- Athanasios, L., Mattingsdal, M., Kähler, A.K., Brown, A., Gustafsson, O., Agartz, I., Giegling, I., Muglia, P., Cichon, S., Rietschel, M., Pietiläinen, O.P., Peltonen, L., Bramon, E., Collier, D., Clair, D.S., Sigurdsson, E., Petursson, H., Rujescu, D., Melle, I., Steen, V.M., Djurovic, S. and Andreassen, O.A. (2010). "Gene variants associated with schizophrenia in a Norwegian genome-wide study are replicated in a large European cohort." *Journal of Psychiatry Research* 44(12): 748-753.
- Baddeley, A. (1998). "Working memory." *Life Sciences* 321(2-3): 167-173.
- Baddeley, A. (2000). "The episodic buffer: a new component of working memory?" *Trends in cognitive Sciences* 4(11): 417-423.
- Bai, J., He, F., Novikova, S.I., Undie, A.S., Dracheva, S., Haroutunian, V. and Lidow, M.S. (2004). "Abnormalities in the dopamine system in schizophrenia may lie in altered levels of dopamine receptor-interacting proteins." *Biological Psychiatry* 56(6): 427-440.
- Bakkaloglu, B., O'Roak, B.J., Louvi, A., Gupta, A.R., Abelson, J.F., Morgan, T.M., Chawarska, K., Klin, A., Ercan-Sencicek, A.G., Stillmann, A.A., Tanriover, G.,

- Abrahams, B.S., Duvall, J.A., Robbins, E.M., Geschwind, D.H., Biederer, T., Gunel, M., Lifton, R.P. and State, M.W. (2008). "Molecular cytogenetic analysis and resequencing of contactin associated protein-Like 2 in autism spectrum disorders." *American Journal of Human Genetics* 82(1): 165–173.
- Barajas, A., Ochos, S., Obiols, J.E. and Lalucat-Jo, L. (2015). "Gender differences in individuals at high-risk of psychosis: A comprehensive literature review." *The Scientific World Journal* 2015.
- Barrett, J.C., Fry, B., Maller, J. and Daly, M.J. (2005). "Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps." *Bioinformatics* 21(2): 263-265.
- Bechara, A., Tranel, D., Damasio, H., Adolphs, R., Rockland, C. and Damasio, A.R. (1995). "Double dissociation of conditioning and declarative knowledge relative to the amygdala and hippocampus in humans." *Science* 269(5227): 1115-1118.
- Belloso, J.M., Bache, I., Guitart, M., Caballin, M.R., Halgren, C., Kirchhoff, M., Ropers, H.H., Tommerup, N. and Turner, Z. (2007). "Disruption of the CNTNAP2 gene in a t(7;15) translocation family without symptoms of Gilles de la Tourette syndrome." *European Journal of Human Genetics* 15(6): 711-713.
- Bernard, F.A., Bullmore, E.T., Graham, K.S., Thompson, S.A., Hodges, J.R. and Fletcher, P.C. (2004). "The hippocampal region is involved in successful recognition of both remote and recent famous faces." *Neuroimage* 22(4): 1704-1714.
- Bilder, R.M., Goldman, R.S., Robinson, D., Reiter, G., Bell, L., Bates, J.A., Pappadopulos, E., Willson, D.F., Alvir, J.M., Woerner, M.G., Geisler, S., Kane, J.M. and Lieberman, J.A. (2000). "Neuropsychology of first-episode schizophrenia: Initial characterization and clinical correlates." *American Journal of Psychiatry* 157(4): 549-559.
- Blaxton, T.A., Bookheimer, S.Y., Zeffiro, T.A., Figlozzi, C.M., Gaillard, W.D. and Theodore, W.H. (1996). "Functional mapping of human memory using PET: comparisons of conceptual and perceptual tasks." *Canadian Journal of Experimental Psychology* 50(1): 42-56.
- Blumenfeld, R.S. and Ranganath, C. (2007). "Prefrontal cortex and long-term memory encoding: an integrative review of findings from neuropsychology and neuroimaging." *Neuroscientist* 13(3): 280-291.
- Böcker, S. (2003). "SNP and mutation discovery using base-specific cleavage and MALDI-TOF mass spectrometry." *Bioinformatics Supplement* 19(1): 44-53.
- Bogerts, B., Falkai, P. and Greve, B. (1991). "Evidence of reduced temporolimbic structure volumes in schizophrenia." *Archives of General Psychiatry* 48(10): 956-958.
- Boydell, J., van Os, J., McKenzie, K., Allardyce, J., Goel, R., McCreadie, R.G. and Murray, R.M. (2001). "Incidence of schizophrenia in ethnic minorities in London: ecological study into interactions with environment." *BMJ* 323(7325): 1336-1338.
- Braff, D.L., Freedman, R., Schork, N.J. and Gottesman, I.I. (2007). "Deconstructing schizophrenia: an overview of the use of endophenotypes in order to understand a complex disorder." *Schizophrenia Bulletin* 33(1): 21-32.
- Braff, D.L., Geyer, M.A. and Swerdlow, N.R. (2001). "Human studies of prepulse inhibition of startle: normal subjects, patient groups, and pharmacological studies." *Psychopharmacology* 156(2-3): 234 - 258.

- Braff, D.L., Heaton, R., Kuck, J., Cullum, M., Moranville, J., Grant, I. and Zisook, S. (1991). "The generalized pattern of neuropsychological deficits in outpatients with chronic schizophrenia with heterogeneous Wisconsin Card Sorting Test results." *Arch Gen Psychiatry* 48(10): 891-898.
- Bramness, J.G., Gundersen, O.H., Guterstam, J., Rognli, E.B., Konstenius, M., Loberg, E.M., Medhus, S., Tanum, L. and Franck, J. (2012). "Amphetamine-induced psychosis - a separate diagnostic entity or primary psychosis triggered in the vulnerable?" *BMC Psychiatry* 12(221): 221-244.
- Brand, M. and Markowitsch, H.J. (2006). "Lernen und Gedächtnis aus neurowissenschaftlicher Perspektive - Konsequenzen für die Gestaltung des Schulunterrichts." Weinheim, Beltz Verlag.
- Breier, A., Su, T.P., Saunders, R., Carson, R.E., Kolachana, B.S. and de Bartolomeis, A. (1997). "Schizophrenia is associated with elevated amphetamine-induced synaptic dopamine concentrations: Evidence from a novel positron emission tomography method." *PNAS* 94(6): 2569-2574.
- Brown, A.S. (2011). "The environment and susceptibility to schizophrenia." *Prog Neurobiol* 93(1): 23-58.
- Brown, A.S. and Susser, E.S. (1996). "Epidemiology of schizophrenia: Findings implicate neurodevelopmental insults early in life. Schizophrenia: New directions for clinical research and treatment." New York, Larchmont Inc.
- Buchanan, R.W., Davis, M., Goff, D., Green, M.F., Keefe, R.S., Leon, A.C., Nuechterlein, K.H., Laughren, T., Levin, R., Stover, E., Fenton, W. and Marder, S.R. (2005). "A summary of the FDA-NIMH-MATRICES workshop on clinical trial design for neurocognitive drugs for schizophrenia." *Schizophrenia Bulletin* 31(1): 5-19.
- Burbach, J.P. and van der Zwaag, B. (2009). "Contact in the genetics of autism and schizophrenia." *Trends Neurosci* 32(2): 69-72.
- Campanella, G., Roy, M. and Barbeau, A. (1987). "Drugs affecting movement disorders." *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 27: 113-136.
- Cardno, A.G. and Gottesman, I.I. (2000). "Twin studies of schizophrenia: from bow-and-arrow concordances to star wars Mx and functional genomics." *Am J Med Genet A* 97(1): 12-17.
- Carlsson, A. (1987). "The dopamine hypothesis of schizophrenia 20 years later. Search for the cause of schizophrenia." Springer.
- Carlsson, A., Hansson, L.O., Waters, N. and Carlsson, M.L. (1999). "A glutamatergic deficiency model of schizophrenia." *Br J Psychiatry Suppl* 37: 2-6.
- Carlsson, M.L., Martin, P., Nilsson, M., Sorensen, S.M., Carlsson, A., Waters, S. and Waters, N. (1999). "The 5-HT_{2A} receptor antagonist M100907 is more effective in counteracting NMDA antagonist- than dopamine agonist-induced hyperactivity in mice." *Journal of Neural Transmission* 106(2): 123-129.
- Censits, D.M., Ragland, J.D., Gur, R.C. and Gur, R.E. (1997). "Neuropsychological evidence supporting a neurodevelopmental model of schizophrenia: a longitudinal study." *Schizophr Res* 24(3): 289-298.
- Chan, R.C. and Gottesman, I.I. (2008). "Neurological soft signs as candidate endophenotypes for schizophrenia: A shooting star or a Northern star? ." *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 32(5): 957 - 971.

- Chen, P., Huang, K., Zhou, G., Zeng, Z., Wang, T., Li, B., Wang, Y., He, L., Feng, G. and Shi, Y. (2011). "Common SNPs in CSF2RB are associated with major depression and schizophrenia in the Chinese Han population." *World J Biol Psychiatry* 12(3): 233-238.
- Chipuer, H.M., Rovine, M.J. and Plomin, R. (1990). "LISREL modeling: genetic and environmental influences on IQ revisited." *Intelligence* 14: 11-29.
- Cichon, S., Craddock, N., Psychiatric, G.C.C.C., Daly, M., Faraone, S.V., Gejman, P.V., Kelsoe, J., Lehner, T., Levinson, D.F., Moran, A., Sklar, P. and Sullivan, P.F. (2009). "Genomewide association studies: history, rationale, and prospects for psychiatric disorders." *American Journal of Psychiatry* 166(5): 540-556.
- Cirillo, M. and Seidman, L.J. (2003). "A review of verbal declarative memory function in schizophrenia: from clinical assessment to genetics and brain mechanisms." *Neuropsychology Review* 13(2): 43 - 77
- Cockrell, J.R. and Folstein, M.F. (1988). "Mini-Mental State Examination (MMSE)." *Psychopharmacol Bull* 24(4): 689-692.
- Cornblatt, B.A., Lenzenweger, M.F. and Erlenmeyer-Kimling, L. (1989). "The continuous performance test, identical pairs version: II. Contrasting attentional profiles in schizophrenic and depressed patients." *Psychiatry Research* 29(1): 65-85.
- Coyle, J.T. (2004). "The GABA-glutamate connection in schizophrenia: which is the proximate cause?" *Biochemical Pharmacology* 68(8): 1507-1514.
- Cullen, T.J., Walker, M.A., Eastwood, S.L., Esiri, M.M., Harrison, P.J. and Crow, T.J. (2006). "Anomalies of asymmetry of pyramidal cell density and structure in dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia." *The British Journal of Psychiatry* 188: 26-31.
- Davidson, M., Harvey, P., Welsh, K.A., Powchik, P., Putnam, K.M. and Mohs, R.C. (1996). "Cognitive functioning in late-life schizophrenia: A comparison of elderly schizophrenic patients and patients with Alzheimer's disease." *American Journal of Psychiatry* 153(10): 1274-1279.
- Dean, C. and Dresbach, T. (2006). "Neuroligins and neuroligins: linking cell adhesion, synapse formation and cognitive function." *Trends in Neuroscience* 29(1): 21-29.
- Dennis, E.L., Jahanshad, N., Rudie, J.D., Brown, J.A., Johnson, K., McMahon, K.L., de Zubicaray, G.I., Montgomery, G., Martin, N.G., Wright, M.J., Bookheimer, S.Y., Dapretto, M., Toga, A.W. and Thompson, P.M. (2011). "Altered structural brain connectivity in healthy carriers of the autism risk gene CNTNAP2." *Brain Connect* 1(6): 447-459.
- Ebert, D. (2005). "Die Schizophrenien." Bremen, UNI-Med.
- Eichenbaum, H. (2000). "A cortical-hippocampal system for declarative memory." *Nature Reviews Neuroscience* 1(1): 41-50.
- Eldridge, L.L., Knowlton, B.J., Furmanski, C.S., Bookheimer, S.Y. and Engel, S.A. (2000). "Remembering episodes: a selective role for the hippocampus during retrieval." *Nature Neuroscience* 3(11): 1149-1152.
- Elissalde, S.N., Mazzola-Pomietto, P., Viglianese, N., Correard, N., Fakra, E. and Azorin, J.M. (2011). "Schizophrenia, executive control and memory." *Encephale* 37(2): 95-99.
- Fei, Z., Ono, T. and Smith, L.M. (1998). "MALDI-TOF mass spectrometric typing of single nucleotide polymorphisms with mass-tagged ddNTPs." *Nucleic Acids Research* 26(11): 2827-2828.

- Ferbinteanu, J., Kennedy, P.J. and Shapiro, M.L. (2006). "Episodic memory - from brain to mind." *Hippocampus* 16(9): 691-703.
- Fine, A., Hoyle, C., Maclean, C.J., Levatte, T.L., Baker, H.F. and Ridley, R.M. (1997). "Learning impairments following injection of a selective cholinergic immunotoxin, ME20.4 IgG-saporin, into the basal nucleus of Meynert in monkeys." *Neuroscience* 81(2): 331-343.
- Folstein, M.F., Folstein, S.E. and McHugh, P.R. (1975). "Mini-Mental State (a practical method for grading the state of patients for the clinician)." *Journal of Psychiatric Research* 12(3): 189-198.
- Forrest, M., Chapman, R.M., Doyle, M., Tinsley, C.L., Waite, A. and Blake, D.J. (2012). "Functional analysis of TCF4 missense mutations that cause Pitt-Hopkins Syndrome." *Hum Mutat* 33(12): 1676-1686.
- Franke, P., Maier, W., Hain, C. and Klingler, T. (1992). "Wisconsin Card Sorting Test: an indicator of vulnerability to schizophrenia?" *Schizophrenia Research* 6(3): 243 – 249
- Freedman, R., Adler, L.E. and Leonard, S. (1999). "Alternative phenotypes for the complex genetics of schizophrenia." *Biological Psychiatry* 45(5): 551 - 558
- Friedman, D. and Squires-Wheeler, E. (1994). "Event-related potentials (ERPs) as indicators of risk for schizophrenia." *Schizophrenia Bulletin* 20(1): 63-74
- Friedman, J.I., Vrijenhoek, T., Markx, S., Janssen, I.M., van der Vliet, W.A., Faas, B.H., Knoers, N.V., Cahn, W., Kahn, R.S., Edelman, L., Davis, K.L., Silverman, J.M., Brunner, H.G., van Kessel, A.G., Wijmenga, C., Ophoff, R.A. and Veltman, J.A. (2008). "CNTNAP2 gene dosage variation is associated with schizophrenia and epilepsy." *Molecular Psychiatry* 13(3): 261-266.
- Friedrichs, J. (1985). "Methoden empirischer Sozialforschung." Opladen, Westdeutscher Verlag.
- Fusar-Poli, P. and Politi, P. (2008). "Paul Eugen Bleuler and the birth of schizophrenia (1908)." *Am J Psychiatry* 165(11): 1407.
- Gabriel, S.B., Schaffner, S.F., Nguyen, H., Moore, J.M., Roy, J., Blumenstiel, B., Higgins, J., DeFelice, M., Lochner, A., Faggart, M., Liu-Cordero, S.N., Rotimi, C., Adeyemo, A., Cooper, R., Ward, R., Lander, E.S., Daly, M.J. and Altshuler, D. (2002). "The structure of haplotype blocks in the human genome." *Science* 296(5576): 2225-2229.
- Gabrieli, J.D. (1998). "Cognitive neuroscience of human memory." *Annual Review of Psychology* 49: 87-115.
- Gabrieli, J.D., Stebbins, G.T., Singh, J., Willingham, D.B. and Goetz, C.G. (1997). "Intact mirror-tracing and impaired rotary-pursuit skill learning in patients with Huntington's disease: evidence for dissociable memory systems in skill learning." *Neuropsychology* 11(2): 272-281.
- Galletly, C. (2009). "Recent advances in treating cognitive impairment in schizophrenia." *Psychopharmacology* 202(1-3): 259-273.
- Gaus, W. (1991). "Medizinische Statistik und Informationsverarbeitung." Stuttgart, Hippokrates Verlag.
- Giegling, I., Hartmann, A.M., Genius, J., Benninghoff, J., Möller, H.J. and Rujescu, D. (2008). "Systems biology and complex neurobehavioral traits." *Pharmacopsychiatry* 41: 32-36.

- Go, E.P., Prenni, J.E., Wei, J., Jones, A., Hall, S.C., Witkowska, H.E., Shen, Z. and Siuzdak, G. (2003). "Desorption/ Ionization on Silicon Time- of- Flight/ Time- of- Flight Mass Spectrometry." *Analytical Chemistry* 75(10): 2504-2506.
- Goldberg, T.E., Hyde, T.M., Kleinman, J.E. and Weinberger, D.R. (1993). "Course of schizophrenia: neuropsychological evidence for a static encephalopathy." *Schizophrenia Bulletin* 19(4): 797-804.
- Goldman-Rakic, P.S. (1994). "Working memory dysfunction in schizophrenia." *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences* 6(4): 348–357.
- Goodwin, F.K. and Jamison, K. (1992). "Manic-Depressive Illness: Bipolar Disorders and Recurrent Depression." Oxford, Oxford University Press.
- Gottesman, I.I. and Gould, T.D. (2003). "The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions." *The American Journal of Psychiatry* 160(4): 636-645.
- Green, M.F., Nuechterlein, K.H., Gold, J.M., Barch, D.M., Cohen, J., Essock, S., Fenton, W.S., Frese, F., Goldberg, T.E., Heaton, R.K., Keefe, R.S., Kern, R.S., Kraemer, H., Stover, E., Weinberger, D.R., Zalcman, S. and Marder, S.R. (2004). "Approaching a consensus cognitive battery for clinical trials in schizophrenia: the NIMH-MATRICES conference to select cognitive domains and testcriteria." *Biological Psychiatry* 56(5): 301-307.
- Gur, R.E., Calkins, M.E., Gur, R.C., Horan, W.P., Nuechterlein, K.H., Seidman, L.J. and Stone, W.S. (2007). "The consortium on the genetics of schizophrenia: neurocognitive endophenotypes." *Schizophrenia Bulletin* 33(1): 49–68.
- GWAS Consortium (2011). "Genom-wide association study identifies five new schizophrenia loci." *Nat Genet* 43: 969-976.
- Haff, L.A. and Smirnov, I.P. (1997). "Single-Nucleotide Polymorphism Identification Assays using a thermostable DNA-Polymerase and delayed extraction MALDI-TOF Mass Spectrometry." *Genome Research* 7(4): 378-388.
- Häfner, H. (2003). "Gender differences in schizophrenia." *Psychoneuroendocrinology* 28: 17-54.
- Harrison, P.J. (2004). "The hippocampus in schizophrenia: a review of the neuropathological evidence and its pathophysiological implications." *Psychopharmacology* 174(1): 151-162.
- Harrison, P.J. and Burnet, P.W. (1997). "The 5-HT_{2A} (serotonin 2A) receptor gene in the aetiology, pathophysiology and pharmacotherapy of schizophrenia." *Journal of Psychopharmacology* 11(1): 18-20.
- Härting, C., Calabrese, P. and Wagner, T. (1999). "Neuropsychologische Abgrenzung von Alzheimerscher Demenz und Depression im revidierten Wechsler'schen Gedächtnistest." *Neurologische Rehabilitation* 5: 27-31.
- Härting, C., Markowitsch, H.J., Neufeld, H., Calabrese, P., Deisinger, K. and Kessler, J. (2000). "Wechsler Memory Scale - Revised Edition, German Edition Manual."
- Heindel, W.C., Salmon, D.P., Shults, C.W., Walicke, P.A. and Butters, N. (1989). "Neuropsychological evidence for multiple implicit memory systems, a comparison of Alzheimer's, Huntington's and Parkinson's disease patients." *Journal of Neuroscience* 9(2): 582-587.

- Heinrichs, R.W. and Zakzanis, K.K. (1998). "Neurocognitive deficit in schizophrenia: a quantitative review of the evidence." *Neuropsychology* 12(3): 426-445.
- Herson, M. (2011). "Etiological considerations." John Wiley & Sons.
- Hoff, A.L., Riordan, H., O'Donnell, D.W., Morris, L. and DeLisi, L.E. (1992). "Neuropsychological functioning of first-episode schizophreniform patients." *Am J Psychiatry* 149(7): 898-903.
- Holzman, P.S., Kringlen, E., Matthysse, S., Flanagan, S.D., Lipton, R.B., Cramer, G., Levin, S., Lange, K. and Levy, D.L. (1988). "A single dominant gene can account for eye tracking dysfunctions and schizophrenia in offspring and discordant twins." *Archives of General Psychiatry* 45(7): 641-647.
- IBM Corporation (2010). "SPSS Statistics for Windows, Version 19.0." Armonk, IBM Corporation.
- Ikeda, M., Aleksic, B., Kinoshita, Y., Okochi, T., Kawashima, K., Kushima, I., Ito, Y., Nakamura, Y., Kishi, T., Okumura, T., Fukuo, Y., Williams, H.J., Hamshire, M.L., Ivanov, D., Inada, T., Suzuki, M., Hashimoto, R., Ujike, H., Takeda, M., Craddock, N., Kaibuchi, K., Owen, M.J., Ozaki, N., O'Donovan, M.C. and Iwata, N. (2011). "Genome-wide association study of schizophrenia in a Japanese population." *Biol Psychiatry* 69(5): 472-478.
- Invitrogen. (2008). Quant-iT™ PicoGreen® dsDNA Reagent and Kits.
- Jackman, C., Horn, N.D., Molleston, J.P. and Sokol, D.K. (2009). "Gene associated with seizures, autism, and hepatomegaly in an Amish girl." *Pediatric Neurology* 40(4): 310-313.
- Javitt, D.C. and Coyle, J.T. (2004). "Decoding schizophrenia." *Scientific American* 290(1): 45-55.
- Jernigan, T.L., Zisook, S. and Heaton, R.K. (1991). "Magnetic resonance imaging abnormalities in lenticular nuclei and cerebral cortex in schizophrenia." *Archives of General of Psychiatry* 48(10): 881-890.
- Ji, W., Li, T., Pan, Y., Tao, H., Ju, K., Wen, Z., Fu, Y., An, Z., Zaho, Q., Wang, T., He, L., Feng, G., Yi, Q. and Shi, Y. (2012). "CNTNAP2 is significantly associated with schizophrenia and major depression in the Han Chinese population." *Psychiatric Research* 207(3): 225-228.
- Jones, C., Watson, D. and Fone, K. (2011). "Animal model of schizophrenia." *Br J Pharmacol* 164(4): 1162-1194.
- Kandel, E.R. and Jessell, T.M. (2000). "Principles of Neural Science." McGraw - Hill Professional.
- Karow, T. and Lang-Roth, R. (2004). "Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Vorlesungsorientierte Darstellung und klinischer Leitfaden."
- Kay, S.R., Fiszbein, A. and Opler, L.A. (1987). "The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia." *Schizophrenia Bulletin* 13(2): 261-276.
- Keefe, R.S. and Fenton, W.S. (2007). "How should DSM-V criteria for schizophrenia include cognitive impairment?" *Schizophrenia Bulletin* 33(4): 912-920.
- Kendler, K.S. and Gardner, C.O. (1997). "The risk for psychiatric disorders in relatives of schizophrenic and control probands: a comparison of three independent studies." *Psychol Med* 27(2): 411-419.

- Kendler, K.S., Gruenberg, A.M. and Kinney, D.K. (1994). "Independent diagnoses of adoptees and relatives as defined by DSM-III in the provincial and national samples of the Danish Adoption Study of Schizophrenia." *Arch Gen Psychiatry* 51(6): 456-468.
- Keshavan, M.S., Tandon, R., Boutros, N.N. and Nasrallah, H.A. (2008). "Schizophrenia, "just the facts": what we know in 2008 Part 3: neurobiology." *Schizophrenia Research* 106(2-3): 89-107.
- Kety, S.S., Wender, P.H., Jacobsen, B., Ingraham, L.J., Jansson, L., Faber, B. and Kinney, D.K. (1994). "Mental illness in the biological and adoptive relatives of schizophrenic adoptees. Replication on the Copenhagen Study in the rest of Denmark." *Arch Gen Psychiatry* 51(6): 442-455.
- King, S. (2000). "Is expressed emotion cause or effect in the mothers of schizophrenic young adults? ." *Schizophrenia Research* 45: 65-78.
- Kirov, G., O'Donovan, M.C. and Owen, M.J. (2005). "Finding schizophrenia genes." *J Clin Invest* 115(6): 1440-1448.
- Klinke, R. and Silbernagl, S. (2003). "Lehrbuch der Physiologie." Stuttgart, Thieme Verlag.
- Knecht, S., Breitenstein, C., Bushuven, S., Wailke, S., Kamping, S., Floel, A., Zwieterlood, P. and Ringelstein, E.B. (2004). "Levodopa: faster and better word learning in normal humans." *Annals of Neurology* 56(1): 20-26.
- Knowlton, B.J., Mangels, J.A. and Squire, L.R. (1996). "A neostriatal habit learning system in humans." *Science* 273(5280): 1399-1402.
- Knutson, B. and Cooper, J.C. (2005). "Functional magnetic resonance imaging of reward prediction." *Current Opinion in Neurology* 18(4): 411-417.
- Krabbe, S., Duda, J., Schiemann, J., Poetschke, C., Schneider, G., Kandel, E.R., Liss, B., Roeper, J. and Simpson, E.H. (2015) "Increased dopamine D2 Receptor activity in the striatum alters the firing pattern of dopamine neurons in the ventral tegmental area." *Proc Natl Acad Sci U S A* 112, 1498-1506.
- Kumari, V., Das, M., Zachariah, E., Ettinger, U. and Sharma, T. (2005). "Reduced prepulse inhibition in unaffected siblings of schizophrenia patients." *Psychophysiology* 42(5): 588-594.
- Kuppuswamy, M.N., Hoffmann, J.W., Kasper, C.K., Spitzer, S.G., Groce, S.L. and Bajaj, S.P. (1991). "Single nucleotide primer extension to detect genetic diseases: Experimental application to hemophilia B (factor IX) and cystic fibrosis genes." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA (PNAS)* 88(4): 1143-1147.
- Lauronen, E., Koskinen, J., Veijola, J., Miettinen, J., Jones, P.B., Fenton, W.S. and Isohanni, M. (2005). "Recovery from schizophrenic psychoses in the northern Finland 1966 Birth Cohort." *Clin Psychiatry* 66(3): 375-383.
- Leenertz, L., Rujescu, D., Wagner, M., Frommann, I., Schulze-Rauschenbach, S., Schuhmacher, A., Landsberg, M.W., Franke, P., Möller, H.J., Wölwer, W., Gaebel, W., Häfner, H., Maier, W. and Mössner, R. (2010). "Novel schizophrenia risk gene TCF4 influences verbal learning and memory functioning in schizophrenia patients." *Neuropsychology* 63(3): 131-136.
- Lehmann, W.D. (1996). "Massenspektrometrie in der Biochemie." Heidelberg, Spektrum Akademischer Verlag.

- Lencz, T., Morgan, T.V., Athanasiou, M., Dain, B., Reed, C.R., Kane, J.M., Kucherlapati, R. and Malhotra, A.K. (2007). "Converging evidence for a pseudoautosomal cytokine receptor gene locus in schizophrenia." *Molecular Psychiatry* 12(6): 572-580.
- Levine, B., Turner, G.R., Tisserand, D., Hevenor, S.J., Graham, S.J. and McIntosh, A.R. (2004). "The functional neuroanatomy of episodic and semantic autobiographical remembering: a prospective functional MRI study." *Journal of Cognitive Neuroscience* 16(9): 1633-1646.
- Lewis, C.M., Levinson, D.F., Wise, L.H., DeLisi, L.E., Straub, R.E., Hovatta, I., Williams, N.M., Schwab, S.G., Pulver, A.E., Faraone, S.V., Brzustowicz, L.M., Kaufmann, C.A., Garver, D.L., Gurling, H.M., Lindholm, E., Coon, H., Moises, H.W., Byerley, W., Shaw, S.H., Mesen, A., Sherrington, R., O'Neill, F.A., Walsh, D., Kendler, K.S., Ekelund, J., Paunio, T., Lonnqvist, J., Peltonen, L., O'Donovan, M.C., Owen, M.J., Wildenauer, D.B., Maier, W., Nestadt, G., Blouin, J.L., Antonarakis, S.E., Mowry, B.J., Silverman, J.M., Crowe, R.R., Cloninger, C.R., Tsuang, M.T., Malaspina, D., Harkavy-Friedman, J.M., Svrakic, D.M., Bassett, A.S., Holcomb, J., Kalsi, G., McQuillin, A., Brynjolfson, J., Sigmundsson, T., Petursson, H., Jazin, E., Zoega, T. and Helgason, T. (2003). "Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia." *American Journal of Human Genetics* 73(1): 34-48.
- Lieb, K. (2008). "Schizophrenien und andere psychotische Störungen." Urban&Fisher Verlag.
- Lisman, J.E. and Grace, A.A. (2005). "The hippocampal-VTA loop: controlling the entry of information into long-term memory." *Neuron* 46(5): 703-713.
- Lykken, D.T., McGue, M., Tellegen, A. and Bouchard, T.J. (1992). "Emergenesis. Genetic traits that may not run in families." *The American Psychologist* 47(12): 1565-1577.
- Lynch, M.A. (2004). "Long-term potentiation and memory." *Physiological Review* 84(1): 87-136.
- Ma, X., Deng, W., Liu, X., Li, M., Chen, Z., He, Z., Wang, Y., Wang, Q., Hu, X., Collier, D.A. and Li, T. (2011). "A genome-wide association study for quantitative traits in schizophrenia in China." *Genes Brain Behav* 10(7): 734-739.
- Maier, W., Lichtermann, D., Rietschel, M., Held, T., Falkai, P., Wagner, M. and Schwab, S. (1999). "Genetics of schizophrenic disorders. New concepts and findings." *Nervenarzt* 70(11): 955-969.
- Maier, W., Lichtermann, D., Rietschel, M., Held, T., Falkai, P., Wagner, M. and Schwab, S. (1999). "Genetik schizophrener Störungen. Neuere Konzepte und Befunde." *Nervenarzt* 70(11): 955-969.
- Markowitsch, H. (2002). "Dem Gedächtnis auf der Spur. Vom Erinnern und Vergessen." Darmstadt, Wissenschaftliche Buchgesellschaft.
- Marneros, A. and Andreasen, N.C. (1992). "Positive und Negative Symptomatik der Schizophrenie." *Nervenarzt* 63: 262-270.
- Marneros, A., Deister, A. and Rohde, A. (1991). "Affektive, schizoaffektive und schizophrene Psychosen. Eine vergleichende Langzeitstudie." Heildeberg, Springer Verlag.
- McClearn, G.E., Johansson, B., Berg, S., Pedersen, N.L., Ahern, F., Petrill, S.A. and Plomin, R. (1997). "Substantial genetic influence on cognitive abilities in twins 80 or more years old." *Science* 276(5318): 1560-1563.

- McGrath, J., Saha, S., Welham, J., El Saadi, O., MacCauley, C. and Chant, D. (2004). "A systematic review of the incidence of schizophrenia: the distribution of rates and the influence of sex, urbanicity, migrant status and methodology." *BMC Medicine* 2(13).
- McKenna, P.J. (1997). "Schizophrenia and related syndromes." Hove, Psychology Press.
- Meeter, M., Murre, J.M. and Talamini, L.M. (2004). "Mode shifting between storage and recall based on novelty detection in oscillating hippocampal circuits." *Hippocampus* 14(6): 722-741.
- Meltzer, H.Y., Thompson, P.A., Lee, M.A. and Ranjan, R. (1996). "Neuropsychologic deficits in schizophrenia: relation to social function and effect of antipsychotic drug treatment." *Neuropsychopharmacology* 14: 27-33.
- Meyer-Lindenberg, A.S., Olsen, R.K., Kohn, P.D., Brown, T., Egan, M.F., Weinberger, D.R. and Berman, K.F. (2005). "Regionally specific disturbance of dorsolateral prefrontal-hippocampal functional connectivity in schizophrenia." *Archives of General Psychiatry* 62(44): 379-386.
- Missler, M. and Sudhof, T.C. (1998). "Neurexophilins form a conserved family of neuropeptide-like glycoproteins." *Neuroscience* 18(10): 3630-3638.
- Mizukami, K., Sasaki, M., Ishikawa, M., Iwakiri, M., Hidaka, S., Shiraishi, H. and Iritani, S. (2000). "Immunohistochemical localization of gamma- aminobutyric acid (GABA) receptor in the hippocampus of subjects with schizophrenia." *Neuroscience Letters* 283(2): 101-104.
- Morris, C.P., Baune, B.T., Domschke, K., Arolt, V., Swagell, C.D., Hughes, I.P., Lawford, B.R., Mc, D.Y.R. and Voisey, J. (2012). "KPNA3 variation is associated with schizophrenia, major depression, opiate dependence and alcohol dependence." *Dis Markers* 33(4): 163-170.
- Morris, R.G., Moser, E.I., Riedel, G., Martin, S.J., Sandin, J., Day, M. and O'Carroll, C. (2003). "Elements of a neurobiological theory of the hippocampus: the role of activity-dependent synaptic plasticity in memory." *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 358 358(1432): 773-786.
- Mueser, K.T. and McGurk, S.R. (2004). "Schizophrenia." *Lancet* 363(9426): 2063-2072.
- Nakabayashi, K. and Scherer, S.W. (2001). "The human contactin-associated protein-like 2 gene (CNTNAP2) spans over 2 Mb of DNA at chromosome 7q35." *Genomics* 73(1): 108-112.
- Need, A.C., Ge, D., Weale, M.E., Maia, J., Feng, S., Heinzen, E.L., Shianna, K.V., Yoon, W., Kasperaviciute, D., Gennarelli, M., Strittmatter, W.J., Bonvicini, C., Rossi, G., Jayatilake, K., Cola, P.A., McEvoy, J.P., Keefe, R.S., Fisher, E.M., St Jean, P.L., Giegling, I., Hartmann, A.M., Moller, H.J., Ruppert, A., Fraser, G., Crombie, C., Middleton, L.T., St Clair, D., Roses, A.D., Muglia, P., Francks, C., Rujescu, D., Meltzer, H.Y. and Goldstein, D.B. (2009). "A genome-wide investigation of SNPs and CNVs in schizophrenia." *PLoS Genet* 5(2).
- Newbury, D.F., Paracchini, S., Scerri, T.S., Winchester, L., Addis, L., Richardson, A.J., Walter, J., Stein, J.F., Talcott, J.B. and Monaco, A.P. (2011). "Investigation of dyslexia and SLI risk variants in reading- and language-impaired subjects." *Behavioral Genetics* 41(1): 90-104.
- Newcomer, J.W., Farber, N.B., Jevtovic-Todorovic, V., Selke, G., Melson, A.K., Hershey, T., Craft, S. and Olney, J.W. (1999). "Ketamine-induced NMDA receptor

hypofunction as a model of memory impairment and psychosis." *Neuropsychopharmacology* 20(2): 106-118.

Nichols, D.E. (2004). "Hallucinogens." *Pharmacol Therapie* 101(2): 131-181.

Nöthen, M.M., Rietschel, M., Propping, P. and Maier, W. (2004). "Fortschritte in der Ursachenforschung affektiver und schizophrener Störungen." *Deutsches Ärzteblatt* 101(49): 3343-3347.

Nuechterlein, K.H., Barch, D.M., Gold, J.M., Goldberg, T.E., Green, M.F. and Heaton, R.K. (2004). "Identification of separable cognitive factors in schizophrenia." *Schizophr Res* 72(1): 29-39.

Nuechterlein, K.H., Dawson, M.E. and Green, M.F. (1994). "Information-processing abnormalities as neuropsychological vulnerability indicators for schizophrenia." *Acta Psychiatrica Scandinavica* 384: 71-79.

Nyberg, L. (2005). "Any novelty in hippocampal formation and memory?" *Neurology* 18(4): 424-428.

O'Driscoll, G.A., Florencio, P.S., Gagnon, D., Wolff, A.V., Benkelfat, C., Mikula, L., Lal, S. and Evans, A.C. (2001). "Amygdala-hippocampal volume and verbal memory in first-degree relatives of schizophrenic patients." *Psychiatry Research* 107(2): 75-85.

Oeth, P., Beaulieu, M., Park, C., Kosman, D., del Mistro, G., van den Boom, D. and Jurinke, C. (2005). "iPLEX Assay: Increased plexing efficiency and flexibility for MassARRAY System through Single Base Primer Extension with mass- modified terminators." *Sequenom*.

Olney, J.W., Newcomer, J.W. and Farber, N.B. (1999). "NMDA receptor hypofunction model of schizophrenia." *Journal of Psychiatric Research* 33(6): 523-533.

Owen, M.J. (2000). "Molecular genetic studies of schizophrenia." *Brain Res Rev* 21(2-3): 179-186.

Palmer, B.W., Heaton, R.K., Paulsen, J.S., Kuck, J., Braff, D., Harris, M.J., Zisook, S. and Jeste, D.V. (1997). "Is it possible to be schizophrenic yet neuropsychologically normal?." *Neuropsychology* 11(3): 437-446.

Panaitof, S.C., Abrahams, B.S., Dong, H., Geschwind, D.H. and White, S.A. (2010). "Language-related Cntnap2 gene is differentially expressed in sexually dimorphic song nuclei essential for vocal learning in songbirds." *J Comp Neurol* 518(11): 1995-2018.

Papassotiropoulos, A., Stephan, D.A., Huentelman, M.J., Hoerndli, F.J., Craig, D.W., Pearson, J.V., Huynh, K.D., Brunner, F., Corneveaux, J., Osborne, D., Wollmer, M.A., Aerni, A., Coluccia, D., Hanggi, J., Mondadori, C.R., Buchmann, A., Reiman, E.M., Caselli, R.J., Henke, K. and de Quervain, D.J. (2006). "Common KIBRA alleles are associated with human memory performance." *Science* 314(5798): 475-478.

Paula-Perez, I. (2012). "Differential diagnosis between the autistic spectrum and the schizophrenic spectrum." *Rev Neurol* 54: 51-62.

Paz, R.D., Tardito, S., M., A. and Y., T.K. (2008). "Glutamatergic dysfunction in schizophrenia: from basic neuroscience to clinical psychopharmacology." *Eur Neuropsychopharmacol* 18(11): 773-786.

Penagarikano, O., Abrahams, B.S., Herman, E.I., Winden, K.D., Gdalyahu, A., Dong, H., Sonnenblick, L.I., Gruver, R., Almajano, J., Bragin, A., Golshani, P., Trachtenberg, J.T., Peles, E. and Geschwind, D.H. (2011). "Absence of CNTNAP2 Leads to Epilepsy,

- Neuronal Migration Abnormalities, and Core Autism-Related Deficits." *Cell* 147(1): 235-246.
- Penagarikano, O. and Geschwind, D.H. (2012). "What does CNTNAP2 reveal about autism spectrum disorder?" *Trends in Molecular Medicine* 18(3): 156-163.
- Penington, N.J. (1994). "Effects of LSD on Calcium-currents in central 5-HT-containing neurons: 5-HT(1A) receptors may play a role in hallucinogenesis." *J Pharmacol Exp Ther* 269(3): 1160-1165.
- Pennington, K., Dicker, P., Hudson, L. and Cotter, D.R. (2008). "Evidence for reduced neuronal somal size within the insular cortex in schizophrenia, but not in affective disorders." *Schizophrenia Research* 106(2-3): 164-171.
- Plomin, R. (2001). "The genetics of g in human and mouse." *Nature Reviews Neuroscience* 2(2): 136-141.
- Plomin, R. and Craig, I. (1997). "Human behavioural genetics of cognitive abilities and disabilities." *Bioassays* 19(12): 1117-1124.
- Poliak, S., Gollan, L., Martinez, R., Custer, A., Einheber, S., Salzer, J.L., Trimmer, J.S., Shrager, P. and Peles, E. (1999). "Caspr2, a new member of the neuexin superfamily, is localized at the juxtaparanodes of myelinated axons and associates with K⁺ channels." *Neuron* 24(4): 1037-1047.
- Propping, P., Nöthen, M.M., Körner, J., Rietschel, M. and Maier, W. (1994). "Assoziationsuntersuchungen bei psychiatrischen Erkrankungen. Konzepte und Befunde." *Nervenarzt* 65(11): 725-740.
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M.A.R., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P.I.W., Daly, M.J. and Sham, P.C. (2007). "PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis." *American Journal of Human Genetics* 81(3): 559-575.
- Purcell, S.M., Wray, N.R., International Schizophrenia, C., Stone, J.L., Visscher, P.M., O'Donovan, M.C., Sullivan, P.F. and Sklar, P. (2009). "Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder." *Nature* 460(7256): 748-752.
- Qiagen. (2005). "QiaAmp® DNA Blood Midi/Maxi Kit Handbook (Second Edition)." Hilden, Germany.
- R Development Core Team (2011). "R - A language and environment for statistical computing."
- Ranganath, C., Minzenberg, M.J. and Ragland, J.D. (2008). "The cognitive neuroscience of memory function and dysfunction in schizophrenia." *Biol Psychiatry* 64(1): 18-25.
- Reber, P.J., Knowlton, B.J. and Squire, L.R. (1996). "Dissociable properties of memory systems: differences in the flexibility of declarative and nondeclarative knowledge." *Neuroscience* 110(5): 861-871.
- Ren, H., Zhang, C., Huang, C., Li, N., Li, M., Li, Y., Deng, W., Ma, X., Xiang, B., Wang, Q. and Li, T. (2015). "Unravelling genes and pathways implicated in working memory of schizophrenia in Han Chinese." *Int J Mol Sci* 16(1): 2145-2161.
- Reynolds, G.P. (2002). "Neurochemistry of Schizophrenia." *Psychiatry*.
- Rice, J.P., Reich, T., Bucholz, K.K., Neuman, R.J., Fishman, R., Rochberg, N., Hesselbrock, V.M., Nurnberger, J.I., Jr., Schuckit, M.A. and Begleiter, H. (1995).

- "Comparison of Direct Interview and Family History Diagnoses of Alcohol Dependence." *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 19(4): 1018-1023.
- Richter-Levin, G. and Akirav, I. (2003). "Emotional tagging of memory formation - in the search for neural mechanisms." *Brain Research Reviews* 43(3): 247-256.
- Richter, V. and Guthke, J. (1996). "Leipziger Ereignis- und Belastungsinventar (LEBI) ". Göttingen, Hogrefe.
- Riley, E.M., McGovern, D., Mockler, D., Doku, V.C., Fannon, D.G., Tennakoon, L., Santamaria, M., Soni, W., Morris, R.G. and Sharma, T. (2000). "Neuropsychological functioning in first-episode psychosis--evidence of specific deficits." *Schizophr Res* 43(1): 47-55.
- Rimol, L.M., Nesvag, R., Hagler, D.J., Jr., Bergmann, O., Fennema-Notestine, C., Hartberg, C.B., Haukvik, U.K., Lange, E., Pung, C.J., Server, A., Melle, I., Andreassen, O.A., Agartz, I. and Dale, A.M. (2012). "Cortical volume, surface area and thickness in schizophrenia and bipolar disorder." *Biol Psychiatry* 71(6): 552-560.
- Rodenas-Cuadrado, P., Ho, J. and Vernes, S.C. (2013). "Shining a light on CNTNAP2: complex functions to complex disorders." *Eur J Hum Genet* 22(2): 171-178.
- Ross, C.A., Margolis, R.L., Reading, S.A., Pletnikov, M. and Coyle, J.T. (2006). "Neurobiology of schizophrenia." *Neuron* 52(1): 139-153.
- Rotaru, D., Lewis, D. and Gonzalez-Burgos, G. (2012). "The role of glutamatergic inputs onto parvalbumin-positive interneurons: relevance for schizophrenia." *Rev neurosci* 23(1): 97-109.
- Routtenberg, A. and Rekart, J.L. (2005). "Post-translational protein modification as the substrate for long-lasting memory." *Trends of Neuroscience* 28(1): 12-19.
- Saykin, A.J., Gur, R.C., Gur, R.E., Mozley, P.D., Mozley, L.H., Resnick, S.M., Kester, D.B. and Stafiniak, P. (1991). "Neuropsychological function in schizophrenia. Selective impairment in memory and learning." *Arch Gen Psychiatry* 48(7): 618-624.
- Schafe, G.E., Nadel, N.V., Sullivan, G.M., Harris, A. and LeDoux, J.E. (1999). "Memory consolidation for contextual and auditory fear conditioning is dependent on protein synthesis, PKA and MAP kinase." *Learning and Memory* 6(2): 97-110.
- Schanze, D., Ekici, A.B., Gawlik, M., Pfuhlmann, B., Reis, A. and Stöber, G. (2010). "Evaluation of risk loci for schizophrenia derived from genome-wide association studies in a German population." *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 156(2): 198-203.
- Scherer, S.W., Cheung, J., MacDonald, J.R., Osborne, L.R., Nakabayashi, K., Herbrick, J.A., Carson, A.R., Parker-Katiraei, L., Skaug, J., Khaja, R., Zhang, J., Hudek, A.K., Li, M., Haddad, M., Duggan, G.E., Fernandez, B.A., Kanematsu, E., Gentles, S., Christopoulos, C.C., Choufani, S., Kwasnicka, D., Zheng, X.H., Lai, Z., Nusskern, D., Zhang, Q., Gu, Z., Lu, F., Zeeman, S., Nowaczyk, M.J., Teshima, I., Chitayat, D., Shuman, C., Weksberg, R., Zackai, E.H., Grebe, T.A., Cox, S.R., Kirkpatrick, S.J., Rahman, N., Friedman, J.M., Heng, H.H., Pelicci, P.G., Lo-Coco, F., Belloni, E., Shaffer, L.G., Pober, B., Morton, C.C., Gusella, J.F., Bruns, G.A., Korf, B.R., Quade, B.J., Ligon, A.H., Ferguson, H., Higgins, A.W., Leach, N.T., Herrick, S.R., Lemyre, E., Farra, C.G., Kim, H.G., Summers, A.M., Gripp, K.W., Roberts, W., Szatmari, P., Winsor, E.J., Grzeschik, K.H., Teebi, A., Minassian, B.A., Kere, J., Armengol, L., Pujana, M.A., Estivill, X., Wilson, M.D., Koop, B.F., Tosi, S., Moore, G.E., Bricht, A.P., Zlotorynski, E., Kerem, B., Kroisel, P.M., Petek, E., Oscier, D.G., Mould, S.J., Dohner, H., Dohner, K., Rommens, J.M., Vincent, J.B., Venter, J.C., Li, P.W., Mural, R.J., Adams, M.D. and

- Tsui, L.C. (2003). "Human Chromosome 7: DNA Sequence and Biology." *Science* 300(5620): 767-772.
- Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomic Consortium. (2014). Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature* 511(7510): 421-7
- Schneider, K. (1967). "Klinische Psychopathologie 8. Auflage." Stuttgart, Georg Thieme Verlag.
- Schnell, R., Hill, P.B. and Esser, E. (2008). *Methoden der empirischen Sozialforschung* (8., unveränd. Aufl.). München, Oldenbourg.
- Schott, B.H., Sellner, D.B., Lauer, C.J., Habib, R., Frey, J.U., Guderian, S., Heinze, H.J. and Duzel, E. (2004). "Activation of midbrain structures by associative novelty and the formation of explicit memory in humans." *Learning and Memory* 11(4): 383-387.
- Schuepbach, D., Keshavan, M.S., Kmiec, J.A. and Sweeney, J.A. (2002). "Negative symptom resolution and improvements in specific cognitive deficits after acute treatment in first-episode schizophrenia." *Schizophr Res* 53(3): 249-261.
- Schurenberg, M., Dreisewerd, K. and Hillenkamp, F. (1999). "Laser Desorption/Ionization Mass spectrometry of peptides and proteins with particle suspension matrixes." *Analytical Chemistry* 71(1): 221-229.
- Scott-Van Zeeland, A.A., Abrahams, B.S., Alvarez-Retuerto, A.I., Sonnenblick, L.I., Rudie, J.D., Ghahremani, D., Mumford, J.A., Poldrack, R.A., Dapretto, M., Geschwind, D.H. and Bookheimer, S.Y. (2010). "Altered functional connectivity in frontal lobe circuits is associated with variation in the autism risk gene CNTNAP2." *Sci Transl Med* 2(56): 56-80.
- Seeburg, P.H., Sprengel, R., Köhr, G. and Osten, P. (2006). "Genetisch veränderte Glutamaterezeptoren in der Maus: Synaptische Erregungsleitung, Plastizität und Rolle beim Lernen." *Jahrbuch 2006 - Max-Planck-Institut für medizinische Forschung*.
- Seeman, P., Schwarz, J., Chen, J.F., Szechtman, H., Perreault, M., McKnight, G.S., Roder, J.C., Quirion, R., Boksa, P., Srivastava, L.K., Yanai, K., Weinshenker, D. and Sumiyoshi, T. (2006). "Psychosis pathways converge via D2high dopamine receptors." *Synapse* 60(4): 319-346.
- Seidenbecher, T., Laxmi, T.R., Stork, O. and Pape, H.C. (2003). "Amygdalar and hippocampal theta rhythm synchronization during fear memory retrieval." *Science* 301(5634): 846-850.
- Seidman, L.J., Faraone, S.V., Goldstein, J.M., Kremen, W.S., Horton, N.J., Makris, N., Toomey, R., Kennedy, D., Caviness, V.S. and Tsuang, M.T. (2002). "Left hippocampal volume as a vulnerability indicator for schizophrenia: a magnetic resonance imaging morphometric study of nonpsychotic first-degree relatives." *Archives of General Psychiatry* 59(9): 839-849.
- Seidman, L.J., Giuliano, A.J., Smith, C.W., Stone, W.S., Glatt, S.J., Meyer, E., Faraone, S.V., Tsuang, M.T. and Cornblatt, B. (2006). "Neuropsychological functioning in adolescents and young adults at genetic risk for schizophrenia and affective psychoses: results from the Harvard and Hillside Adolescent High Risk Studies." *Schizophr Bull* 32(3): 507-524.
- Sequenom. (2012). MassARRAY® iPLEX® Gold - SNP Genotyping.

- Spaniol, J., Davidson, P.S., Kim, A.S., Han, H., Moscovitch, M. and Grady, C.L. (2009). "Event-related fMRI studies of episodic encoding and retrieval: meta-analyses using activation likelihood estimation." *Neuropsychologia* 47(8-9): 1765-1779.
- Spitzer, M. (2002). "Lernen: Gehirnforschung und die Schule des Lebens." Heidelberg / Berlin, Spektrum, Akademischer Verlag.
- Squire, L.R. (1998). "Memory systems." *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences III* 321: 153-156.
- Squire, L.R., Knowlton, B. and Musen, G. (1993). "The structure and organization of memory." *Annual review of Psychology* 44: 453-495.
- Squire, L.R. and Knowlton, B.J. (1995). "Learning about categories in the absence of memory." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 92(26): 12470-12474.
- Squire, L.R., Stark, C.E. and Clark, R.E. (2004). "The medial temporal lobe." *Annual Review of Neuroscience* 27: 279-306.
- Stanssens, P., Zabeau, M., Meersseman, G., Remes, G., Gansemans, Y., Storm, N., Hartmer, R., Honisch, C., Rodi, C.P., Bocker, S. and van den Boom, D. (2004). "High-throughput MALDI-TOF discovery of genomic sequence polymorphisms." *Genome Research* 14(1): 126-133.
- Statistisches Bundesamt. (2014). "Bildungsstand - Bevölkerung nach Bildungsabschluss in Deutschland." Retrieved 10.06.2016, 2016, from <https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/BildungForschungKultur/Bildungsstand/Tabellen/Bildungsabschluss.html>.
- Steeds, H., Carhart-Harris, R.L. and Stone, J.M. (2015). "Drug models of schizophrenia." *Ther Adv Psychopharmacology* 5: 43-58.
- Strauss, K.A., Puffenberger, E.G., Huentelman, M.J., Gottlieb, S., Dobrin, S.E., Parod, J.M., Stephan, D.A. and Morton, D.H. (2006). "Recessive symptomatic focal epilepsy and mutant contactin-associated protein-like 2." *New England Journal of Medicine* 354(13): 1370-1377.
- Sullivan, P.F., Lin, D., Tzeng, J.Y., van den Oord, E., Perkins, D., Stroup, T.S., Wagner, M., Lee, S., Wright, F.A., Zou, F., Liu, W., Downing, A.M., Lieberman, J. and Close, S.L. (2008). "Genomewide association for schizophrenia in the CATIE study: results of stage 1." *Mol Psychiatry* 13(6): 570-584.
- Tan, G.C., Doke, T.F., Ashburner, J., Wood, N.W. and Frackowiak, R.S. (2010). "Normal variation in fronto-occipital circuitry and cerebellar structure with an autism-associated polymorphism of CNTNAP2." *NeuroImage* 53(3): 1030-1042.
- Tandon, R., Keshavan, M.S. and Nasrallah, H.A. (2008). "Schizophrenia, "Just the Facts" what we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology." *Schizophrenia Research* 102(1-3): 1-18.
- Tobler, P.N., Fiorillo, C.D. and Schultz, W. (2005). "Adaptive coding of reward value by dopaminergic neurons." *Science* 307(5715): 1642-1645.
- Toulopoulou, T., Goldberg, T.E., Mesa, I.R., Picchioni, M., Rijdsdijk, F., Stahl, D., Cherny, S.S., Sham, P., Faraone, S.V., Tsuang, M., Weinberger, D.R., Seidman, L.J. and Murray, R.M. (2010). "Impaired intellect and memory: a missing link between genetic risk and schizophrenia? ." *Arch Gen Psychiatry* 67(9): 905-913.

- Toulopoulou, T., Picchioni, M., Rijdsdijk, F., Hua-Hall, M., Ettinger, U., Sham, P. and Murray, R. (2007). "Substantial genetic overlap between neurocognition and schizophrenia: genetic modeling in twin samples." *Arch Gen Psychiatry* 64(12): 1348-1355.
- Townsend, L.A., Malla, A.K. and Norman, R.M. (2001). "Cognitive functioning in stabilized first-episode psychosis patients." *Psychiatry Res* 104(2): 119-131.
- Traka, M., Goutebroze, L., Denisenko, N., Bessa, M., Nifli, A., Havaki, S., Iwakura, Y., Fukamauchi, F., Watanabe, K., Soliven, B., Girault, J.A. and Karagogeos, D. (2003). "Association of TAG-1 with Caspr2 is essential for the molecular organization of juxtaparanodal regions of myelinated fibers." *Journal of Cellular Biology* 162(6): 1161-1172.
- Tsuang, M.T., Stone, W.S. and Faraone, S.V. (2001). "Genes, environment and schizophrenia." *Br J Psychiatry Suppl* 40: 18-24.
- Tulving, E. (2001). "Episodic memory and common sense: how far apart?" *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 356(1413): 1505-1515.
- Tulving, E. (2002). "Episodic memory: from mind to brain." *Annual Review of Psychology* 53: 1-25.
- Tulving, E., Hayman, C.A. and MacDonald, C.A. (1991). "Long-lasting perceptual priming and semantic learning in amnesia: a case experiment." *Journal of Experimental Psychology: Learning Memory and Cognition* 17(4): 595-617.
- Tulving, E. and I., C.F. (2000). "The Oxford handbook of memory." Oxford, Oxford University Press.
- Van Abel, D., Michel, O., Veerhuis, R., Jacobs, M., van Dijk, M. and Oudejans, C.B.M. (2012). "Downregulation of CNTNAP2 by STOX1A is Associated with Alzheimer's Disease." *Journal of Alzheimer's Disease* 31(4): 1-8.
- Van Den Bogaert, A., Schumacher, J., Schulze, T.G., Otte, A.C., Ohlraun, S., Kovalenko, S., Becker, T., Freudenberger, J., Jonsson, E.G., Mattila-Evenden, M., Sedvall, G.C., Czerski, P.M., Kapelski, P., Hauser, J., Maier, W., Rietschel, M., Propping, P., Nothen, M.M. and Cichon, S. (2003). "The DTNBP1 (dysbindin) gene contributes to schizophrenia, depending on family history of the disease." *The American Journal of Human Genetics* 73(6): 1438-1443.
- van Os, J. and Kapur, S. (2009). "Schizophrenia." *Lancet* 374(9690): 635-645.
- Vargha-Khadem, F., Gadian, D.G., Watkins, K.E., Connelly, A., Van Paesschen, W. and Mishkin, M. (1997). "Differential effects of early hippocampal pathology on episodic and semantic memory." *Science* 277(5324): 376-380.
- Vassos, E., Bramon, E., Picchioni, M., Walshe, M., Filbey, F.M., Kravariti, E., McDonald, C., Murray, R.M., Collier, D.A. and Toulopoulou, T. (2010). "Evidence of KIBRA genotype with episodic memory in families of psychotic patients and controls." *Journal of Psychiatric Research* 44(12): 795-798.
- Vassos, E., Collier, D.A., Holden, S., Patch, C., Rujescu, D., St Clair, D. and Lewis, C.M. (2010). "Penetrance for copy number variants associated with schizophrenia." *Human Molecular Genetics* 19(17): 3477-3481.
- Velting, W., Susser, E., van Os, J., Mackenbach, J.P., Selten, J.P. and Hoek, H.W. (2008). "Ethnic density of neighborhoods and incidence of psychotic disorders among immigrants." *Am J Psychiatry* 165(1): 66-73.

- Verkerk, A.J., Mathews, C.A., Joosse, M., Eussen, B.H., Heutink, P., Oostra, B.A. and Genetics., T.S.A.I.C.f. (2004). "CNTNAP2 is disrupted in a family with Gilles de la Tourette syndrome and obsessive compulsive disorder." *Genomics* 82(1): 1-9.
- Vernes, S.C., Newbury, D.F., Abrahams, B.S., Winchester, L., Nicod, J., Groszer, M., Alarcon, M., Oliver, P.L., Davies, K.E., Geschwind, D.H., Monaco, A.P. and Fisher, S.E. (2008). "A functional genetic link between distinct developmental language disorders." *The New England Journal of Medicine* 359(22): 2337-2345.
- Weinberger, D.R., Aloia, M.S., Goldberg, T.E. and Berman, T.F. (1994). "The frontal lobes and schizophrenia." *Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences* 6(4): 419-427.
- Weinberger, D.R., Egan, M.F., Bertolino, A., Callicott, J.H., Mattay, V.S., Lipska, B.K., Berman, K.F. and Goldberg, T.E. (2001). "Prefrontal neurons and the genetics of schizophrenia." *Biological Psychiatry* 50(11): 825-844.
- Wheeler, M.A., Stuss, D.T. and Tulving, E. (1997). "Toward a theory of episodic memory: the frontal lobes and autonoetic consciousness." *Psychological Bulletin* 121(3): 331-354.
- WHO (1992). "International Classification of Diseases (ICD-10)." World Health Organisation.
- Wittchen, H.U., Zaudig, M. and Fydrich, T. (1997). "Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV." Göttingen, Hogrefe.
- Wittorf, A., Sickinger, S., Wiedemann, G. and Klingberg, S. (2008). "Neurocognitive effects of atypical and conventional antipsychotic drugs in schizophrenia: a naturalistic 6-month follow-up study." *Arch Clin Neuropsychol* 23(3): 271-282.
- Wong, E.H., Kemp, J.A., Priestley, T., Knight, A.R., Woodruff, G.N. and Iversen, L.L. (1986). "The anticonvulsant MK-801 is a potent N-methyl-D-aspartate antagonist." *Proc Natl Acad Sci U S A* 83(18): 7104-7108.
- Wright, I.C., Rabe-Hesketh, S., Woodruff, P.W., David, A.S., Murray, R.M. and Bullmore, E.T. (2000). "Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia." *The American Journal of Psychiatry* 157(1): 16-25.
- Yamada, K., Iwayama, Y., Hattori, E., Iwamoto, K., Toyota, T., Ohnishi, T., Ohba, H., Maekawa, M., Kato, T. and Yoshikawa, T. (2011). "Genome-wide association study of schizophrenia in Japanese population." *PLoS* 6(6).
- Ziegler, A. (2002). "Genetische Epidemiologie - Gegenwart und Zukunft." *Deutsches Ärzteblatt* 99(36): 2342-2346.
- Zobel, A. and Maier, W. (2004). "Endophänotypen – ein neues Konzept zur biologischen Charakterisierung psychischer Störungen." *Nervenarzt* 75(3): 205–214.
- Zweier, C., de Jong, E.K., Zweier, M., Orrico, A., Ousager, L.B., Collins, A.L., Bijlsma, E.K., Oortveld, M.A., Ekici, A.B., Reis, A., Schenck, A. and Rauch, A. (2009). "CNTNAP2 and NRXN1 are mutated in autosomal-recessive Pitt-Hopkins-like mental retardation and determine the level of a common synaptic protein in Drosophila." *American Journal of Human Genetics* 85(5): 655-666.